

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA PARA A
CARACTERIZAÇÃO DE COMPOSTOS OXIGENADOS EM
AMOSTRAS AQUOSAS DA PRODUÇÃO DE ETENO A PARTIR
DE ETANOL

JESSICA DANIELI KUNZ

Dissertação apresentada como requisito parcial para
obtenção do grau de mestre em Química.

Profa. Dra. Maria do Carmo Ruaro Peralba

Porto Alegre, maio de 2018.

A presente dissertação foi realizada inteiramente pelo autor, exceto as colaborações as quais serão devidamente citadas nos agradecimentos, no período entre março/2016 e março/2018, no Laboratório de Controle de Qualidade da Braskem na Unidade Químicos 2 – RS e no Centro de Combustíveis da Universidade Federal do Rio Grande do Sul sob Orientação da Professora Doutora Maria do Carmo Ruaro Peralba. A dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de Mestre em Química pela seguinte banca examinadora:

Comissão Examinadora:

Prof. Dra. Rosane Angélica Ligabue

Prof. Dr. Rosângela Assis Jacques

Prof. Dra. Carla Sirtori

Profa. Dra. Maria do Carmo Ruaro Peralba
(Orientadora)

Jessica Danieli Kunz

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora Profa. Dra. Maria do Carmo Ruaro Peralba, por me aceitar como sua orientada e por aceitar o tema deste trabalho. Pelas ideias compartilhadas, por todo apoio, compreensão e carinho durante a realização deste trabalho.

A Braskem pela oportunidade de pesquisa, pela estrutura e equipamentos cedidos para a realização da parte prática de cromatografia a gás.

Ao CECOM pela estrutura e equipamentos para a realização da parte prática de cromatografia a líquido.

Ao Carlos Augusto Becker, pelo auxílio técnico no desenvolvimento da metodologia HS GC-FID, pelas ideias compartilhadas e por todo apoio e compreensão durante a realização deste trabalho.

A Juliana Silva Lemões, pela orientação na operação do HPLC.

Ao Alessandro Dallegrove pelas análises realizadas no UPLC/TOFMS.

Aos Professores Dr. Eliseu Rodrigues, Dra. Rosângela Assis Jacques e aluno Maurício Perin, pelo auxílio nas análises realizadas no HPLC/MS.

A Profa. Dra. Tânia Pizzolato pelas ideias compartilhadas para o desenvolvimento da metodologia.

Ao Prof. Dr. Luiz Mazzini pela inspiração na busca de um desafio maior que a graduação em Química Industrial.

TRABALHOS GERADOS A PARTIR DESTA DISSERTAÇÃO

Trabalho apresentado em congresso:

Kunz, Jessica Danieli.; Peralba, M. C. R.; **Desenvolvimento de Metodologia para Caracterização de Ácidos Orgânicos em Amostras Aquosas da Produção de Eteno a partir de Etanol.** 57º Congresso Brasileiro de Química. Gramado, 2017.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
1.1	Objetivos	3
1.1.1	Objetivo geral	3
1.1.2	Objetivos específicos	3
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
2.1	Produção de eteno a partir de etanol	4
2.2	Determinação de compostos oxigenados em diferentes matrizes	8
2.3	Metodologias analíticas.....	12
2.3.1	Preparo da amostra por amostragem Headspace	12
2.3.2	Cromatografia a gás.....	13
2.3.3	Cromatografia a líquido	14
2.3.4	Cromatografia associada a espectrometria de massas	15
2.4	Validação de métodos analíticos.....	16
2.4.1	Seletividade	16
2.4.2	Linearidade e faixa de trabalho linear	16
2.4.3	Exatidão	17
2.4.4	Limite de detecção e limite de quantificação.....	18
3	PARTE EXPERIMENTAL	20
3.1	Equipamentos e materiais.....	21
3.2	Preparo dos padrões.....	22
3.2.1	Padrões de oxigenados	22
3.2.2	Padrões de ácidos orgânicos.....	24
3.3	Condições analíticas	24
3.3.1	Metodologia de análise por cromatografia a gás com detector de massas (GC-MS).....	24
3.3.2	Metodologia de análise por cromatografia a gás com detector de ionização em chama e amostragem headspace (HS GC-FID).....	25
3.3.3	Metodologia de análise por cromatografia a líquido de alta eficiência com detector de arranjo de diodos (HPLC-DAD)	26
3.4	Validação da metodologia.....	27
3.4.1	Linearidade	27

3.4.2	Seletividade	27
3.4.3	Precisão	27
3.4.4	Exatidão	28
3.4.5	Limite de detecção	28
3.4.6	Limite de quantificação	28
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
4.1	Análise qualitativa da amostra	29
4.2	Desenvolvimento da metodologia HS GC-FID	31
4.3.1	Efeito do volume de amostra	33
4.3.3	Efeito da adição de sais	36
4.3.3.1	Efeito do Na ₂ SO ₄	36
4.3.3.2	Efeito do NaCl	37
4.4	Parâmetros de desempenho analítico na metodologia HS GC-FID	39
4.4.1	Linearidade e Faixa de trabalho	39
4.4.2	Seletividade	40
4.4.3	Precisão	41
4.4.4	Exatidão	43
4.4.5	Limite de detecção e quantificação	44
4.5	Desenvolvimento da metodologia HPLC-DAD	46
4.5.1	Avaliação dos cromatogramas	46
4.6	Parâmetros de desempenho analítico na metodologia HPLC-DAD	52
4.6.1	Seletividade	52
4.6.2	Linearidade	53
4.6.3	Precisão	54
4.6.4	Exatidão	55
4.6.5	Limite de detecção e quantificação	56
5	CONCLUSÕES	57
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	59

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Fluxograma básico da produção de eteno a partir de etanol (adaptado ⁶)	4
Figura 2 – Esquema da reação da desidratação do etanol.....	4
Figura 3 - Formação de acetaldeído e hidrogênio.....	4
Figura 4 - Representação do equilíbrio de fases no headspace ³⁶	12
Figura 5 - Esquema básico de um sistema analítico em cromatografia gasosa.....	13
Figura 6 - Esquema básico de um sistema analítico em cromatografia líquida.....	14
Figura 7 - Identificação dos analitos por GC/MS da amostra investigada: (1) Éter Dietílico, (2) acetaldeído, (3) acetona, (4) butanal, (5) acetato de etila, (6) metanol, (7) etanol, (8) 2-butanol, (9) ácido acético.....	29
Figura 8 - Cromatograma dos padrões analisados pela técnica de cromatografia a gás com detector de ionização em chama e amostragem por headspace....	31
Figura 9 - Cromatograma da amostra coletada do processo de produção de eteno a partir do etanol e analisada por cromatografia a gás com detector de ionização em chama e amostragem por headspace.....	32
Figura 10 - Fator de resposta dos compostos oxigenados obtidos com volumes de amostragem de 2 e 5 mL.....	33
Figura 11 - Valores da média de triplicatas do coeficiente de variação (CV%) para os volumes de amostragem para a injeção por <i>headspace</i> de 2 e 5 mL.	34
Figura 12 – Fator de resposta (área/concentração) dos compostos oxigenados para as temperaturas de equilíbrio de 80°C e 85°C no headspace.....	35
Figura 13 - Coeficiente de variação (CV%) para os fatores de respostas obtidos nos testes de temperaturas de equilíbrio de 80°C e 85°C no <i>headspace</i>	35
Figura 14 - Fator de resposta (área/concentração) dos analitos em amostra sem e com adição do sal Na ₂ SO ₄ nas quantidades de 1 e 0,5 g	36
Figura 15 - Fator de resposta dos analitos em amostra sem e com adição do sal NaCl nas quantidades de 1 e 0,5 g.....	37
Figura 16 - Valores dos CV% dos testes sem e com a adição dos sais Na ₂ SO ₄ e NaCl nas soluções.	38

Figura 17 - Cromatograma da mistura padrão contendo os ácidos orgânicos: (1) ácido fórmico, (2) ácido acético, (3) ácido propanoico, (4) ácido butanoico, (5) ácido pentanoico	47
Figura 18 - Cromatograma da amostra do efluente do reator, contendo os ácidos orgânicos: (2) ácido acético, (3) ácido propanoico, (4) ácido butanoico, (D) desconhecido	48
Figura 19 - Cromatograma da amostra do reator no HPLC-RID	48
Figura 20 - Cromatograma de uma mistura padrão contendo os ácidos orgânicos: (1) ácido fórmico, (2) ácido acético, (3) ácido propanoico, (4) ácido butanoico, (5) ácido pentanoico, (6) ácido hexanoico	49
Figura 21 - Reação de obtenção do 1,1-dietoxi-etano	50
Figura 22 - Cromatograma da amostra padrão do 1,1-dietoxi-etano.....	51
Figura 23 - Espectro de absorção da solução de 1,1-dietoxi-etano em água ..	51
Figura 24 - Espectro de absorção do ácido acético e pureza espectral do analito na amostra	53

LISTA DE TABELAS

Tabela I – Características dos compostos oxigenados presentes nas correntes da produção do eteno a partir da desidratação do etanol ^{10,11,12}	6
Tabela II - Exemplos da determinação de oxigenados em diversas matrizes apresentados na literatura.....	10
Tabela III - Faixa de trabalho dos compostos oxigenados estabelecidas pelo histórico das análises na empresa	22
Tabela IV - Concentração dos padrões para cada ponto da curva de calibração	23
Tabela V - Concentração adicionada de cada analito na matriz (amostra processo).....	23
Tabela VI - Faixa de trabalho dos ácidos orgânicos em estudo.....	24
Tabela VII - Condições analíticas do cromatógrafo com detector de massas..	24
Tabela VIII - Condições analíticas da análise por cromatografia a gás com detector de ionização em chama e amostragem headspace.	25
Tabela IX - Variáveis e valores da otimização da amostragem por headspace	26
Tabela X - Condições analíticas para o HPLC	26
Tabela XI - Tempos de retenção dos compostos oxigenados em estudo, nas condições de análises apresentadas na Tabela VIII.	31
Tabela XII - Equações da reta, faixa de trabalho e coeficiente de determinação para os oxigenados (soluções confeccionadas com água ultrapura)	39
Tabela XIII - Equações da reta, faixa de trabalho e coeficiente de determinação para os oxigenados em soluções confeccionadas com a matriz.....	40
Tabela XIV - Comparação dos coeficientes angulares da curva das soluções em água ultrapura e em soluções com a matriz.....	41
Tabela XV - Coeficiente de variação para avaliação da repetitividade.....	42
Tabela XVI - Coeficiente de variação para avaliação da precisão intermediária	42
Tabela XVII – Valores da exatidão do método por meio da recuperação em três níveis de concentração.	43
Tabela XVIII - Limites de detecção e quantificação dos oxigenados na metodologia HS GC-FID	45

Tabela XIX - Tempo de retenção dos ácidos orgânicos em estudo	46
Tabela XX - Índice de pureza dos compostos ácidos orgânicos determinados pelo detector DAD	52
Tabela XXI - Curvas de calibração para determinação dos ácidos orgânicos em baixa concentração	53
Tabela XXII - Curvas de calibração para determinação dos ácidos orgânicos em média concentração	53
Tabela XXIII - Curvas de calibração para determinação dos ácidos orgânicos em alta concentração	54
Tabela XXIV - Repetitividade para diferentes níveis de concentração dos ácidos	54
Tabela XXV – CV% da precisão intermediária em diferentes níveis de concentração.....	55
Tabela XXVI - Avaliação da recuperação (%) em diferentes níveis de concentração.....	55
Tabela XXVII - Limites de detecção e quantificação dos ácidos orgânicos.....	56

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AOAC: Associação das Comunidades Analíticas (do inglês: “Association of Analytical Communities”)

ASTM: Sociedade Americana para Testes de Materiais (do inglês: “American Society for Testing Materials”)

C₁₈: Fase sólida composta por octadecil silano

CV: Coeficiente de variação

DAD: Detector de Arranjo de Diodos (do inglês: “Diode-Array Detector”)

DB-1: Fase estacionária 100% polidimetilsiloxano

FE: Evaporação total no headspace (do inglês: “Full evaporation”)

FID: Detector de ionização em chama (do inglês: “Flame Ionization Detector”)

GC: Cromatografia em fase gasosa (do inglês: “Gas Chromatography”)

HPLC: Cromatografia a Líquido de Alta Eficiência (do inglês: “High Performance Liquid Chromatography”)

INMETRO: Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia

IUPAC: União Internacional de Química Pura e Aplicada (do inglês: “International Union of Pure and Applied Chemistry”)

MS: Espectrômetro de massas (do inglês: “Mass Spectrometer”)

SPME: Microextração em fase sólida, (do inglês: “*Solid Phase Micro extraction*”)

UV: Ultravioleta

RESUMO

A empresa Braskem S.A. é mundialmente pioneira na produção de eteno a partir da desidratação do etanol. A planta estabelecida na BRASKEM/Triunfo/RS foi extremamente eficiente na geração do eteno, porém apresentou sérios problemas de corrosão, provavelmente pela presença de ácidos orgânicos como produtos secundários. Considerando que não havia disponível na literatura método para determinação dos produtos secundários da produção do eteno, o presente trabalho teve como objetivo o estabelecimento de metodologia para analisar tais produtos, bem como verificar a potencial causa da corrosão. A partir de um perfil qualitativo, das diferentes características e propriedades dos compostos identificados, bem como de suas concentrações, foram propostas duas metodologias: **A)** cromatografia a gás com amostragem *headspace* para os compostos éter dietílico, acetaldeído, propanal, acetona, butanal, acetato de etila, metanol, etanol, pentanal, 2-butanol e propanol; **B)** cromatografia a líquido de alta eficiência com detector de arranjo de diodos para os ácidos fórmico, acético, propanoico, butanoico e pentanoico. Ambas metodologias apresentaram linearidade para todos os compostos estudados nas faixas de trabalhos propostas ($R^2 > 0,99$), bem como foram precisos (Coeficiente de Variação % de no máximo 7,3%) e exatos, com recuperações de 92 a 102% para o método **A** e 91 a 107% para o método **B**. Entre os ácidos determinados, o ácido acético foi o de maior concentração (600 mg L^{-1}).

Palavras-Chave: *ácidos orgânicos; eteno verde; etanol; oxigenados em água.*

ABSTRACT

Braskem S.A., is world pioneering in obtaining ethylene from ethanol dehydration. The plant located in BRASKEM/Triunfo/RS was extremely efficient to produce ethylene but presented serious corrosion problems, probably due to the presence of organic acids generated as by-products. Since there is no method in the literature aiming the determination of by-products generated in the ethylene production, the goal of the present work was the establishment of such analytical methodology, as well as checking the potential cause of corrosion. Starting from a qualitative profile, of the characteristics and properties of the identified compounds as well as their concentrations, two methodologies were proposed: **A)** gas chromatography with headspace sampling applied to ethyl ether, acetaldehyde, propanal, acetone, butanal, ethyl acetate, methanol, ethanol, pentanal, 2-butanol and propanol; **B)** high efficiency liquid chromatography with diode array detector applied to the acids formic, acetic, propanoic, butanoic, and pentanoic. Both methodologies presented linearity for all studied compounds within proposed ranges ($R^2 < 0.99$) being also precise (Maximum variation coefficient 7.3%) and exact with recoveries ranging from 92% to 102% for method **A** and 91% to 107% for method **B**. Among the determined acids, acetic acid was the highest concentration (600 mg L^{-1}).

1 INTRODUÇÃO

Em 1975 foi consolidado o PROALCOOL, programa que tinha por objetivo impulsionar a produção de etanol para uso como combustível automotivo e diminuir a dependência brasileira ao petróleo. Os investimentos no setor agrícola e industrial trouxeram muitos avanços tecnológicos para a produção do etanol a partir da cana de açúcar. A profissionalização e avanço tecnológico do setor possibilitou a utilização do etanol para outras aplicações, como é o caso da produção de eteno a partir da desidratação do etanol. ^{1,2,3,4}

A Braskem S.A. inaugurou em setembro de 2010, a primeira planta mundial de “eteno verde”, utilizando 100% de matéria-prima renovável para produção de eteno grau polímero. O então chamado “eteno verde” possui as mesmas propriedades do eteno de origem fóssil, não sendo necessária nenhuma alteração nos processos de polimerização para produção de polietilenos^{5,3}. Essa foi a principal vantagem de sua fabricação, visto que tornou a produção de eteno independente do petróleo, somado ao fato da utilização de matéria prima renovável.

A tecnologia para produção do “eteno verde” em larga escala, trouxe muitos desafios nas áreas do conhecimento da química e engenharia. As metodologias analíticas para o controle e acompanhamento dos processos de produção do eteno de origem fóssil são amplamente difundidas e dominadas pela indústria petroquímica. No entanto, a produção do “eteno verde” através da desidratação do etanol, gera algumas correntes produtivas, na qual são constituídas misturas complexas de compostos oxigenados em matriz aquosa. Além disso, a presença de contaminantes na matéria-prima, possibilita reações minoritárias e outros subprodutos são formados, como descritos na literatura ⁶, tais como ácido acético, acetato de etila, acetona e metanol.

Durante a operação da planta instalada pela BRASKEM para a produção de eteno verde, foi verificado problemas sérios de corrosão na tubulação, sendo uma das possíveis causas a presença de ácidos orgânicos. Tal fato levou a necessidade de investigação dos produtos formados, responsáveis por tal corrosão. Devido não existir pesquisas ou publicações específicas para análise de qualificação e/ou quantificação dos compostos presentes nestas correntes do processo, o desenvolvimento analítico de análise dos mesmos se tornou necessário. Dessa forma, inicialmente o Laboratório de Controle de Qualidade da Braskem adaptou a metodologia ASTM D3695/95 ⁷ para

realizar as análises destas correntes. Esta metodologia, prevê a injeção direta da amostra aquosa em um cromatógrafo a gás para a determinação dos compostos presentes na mesma. Logo foi percebido que essa análise não atendia aos parâmetros de precisão e exatidão, necessitando a intervenção diária no equipamento para limpeza do injetor e calibração do método, evidenciando a frágil confiabilidade do método. Somado a isso, essa metodologia não indicava a presença dos possíveis ácidos orgânicos presentes na corrente.

O desenvolvimento de uma metodologia analítica confiável e capaz de fornecer a composição fidedigna destas correntes se tornou de extrema importância, de modo a sanar o problema da corrosão. Esses dados, certamente fornecem subsídios a especificação dos materiais utilizados nos equipamentos, para os cálculos de balanço de massa e acompanhamento da eficiência da reação e para o tratamento dos efluentes, o que contribui com a consolidação da tecnologia do processo de produção do “eteno verde”.

1.1 Objetivos

1.1.1 *Objetivo geral*

Desenvolver e validar metodologia de quali e quantificação dos principais oxigenados presentes em amostras aquosas do processo de obtenção do eteno a partir da matéria-prima etanol.

1.1.2 *Objetivos específicos*

- a) Identificar os principais compostos oxigenados presentes na amostra a partir da aplicação de técnicas cromatográficas;

- b) Determinar as melhores condições cromatográficas de análise por cromatografia a gás e cromatografia a líquido para a quantificação dos principais oxigenados presentes em uma amostra do processo de obtenção do “eteno verde”;

- c) Validar a metodologia estabelecida através da avaliação das figuras de mérito: seletividade, linearidade e faixa de trabalho, repetitividade, precisão intermediária, exatidão, limites de detecção e quantificação.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Produção de eteno a partir de etanol

O processo de produção do eteno a partir do etanol é basicamente dividido em duas etapas. A primeira etapa tem por objetivo estabelecer as condições reacionais para que a desidratação do etanol ocorra. Por sua vez, a segunda etapa, tem por objetivo a eliminação dos contaminantes presentes e a purificação do eteno produzido. ⁶

A figura 1 apresenta o fluxograma básico da produção de eteno a partir do etanol. O etanol de usina é recebido em vagões ferroviários e armazenado em tanques. O etanol pré-aquecido é enviado, juntamente com vapor de água a alta pressão, para um forno de aquecimento e posteriormente para o reator.

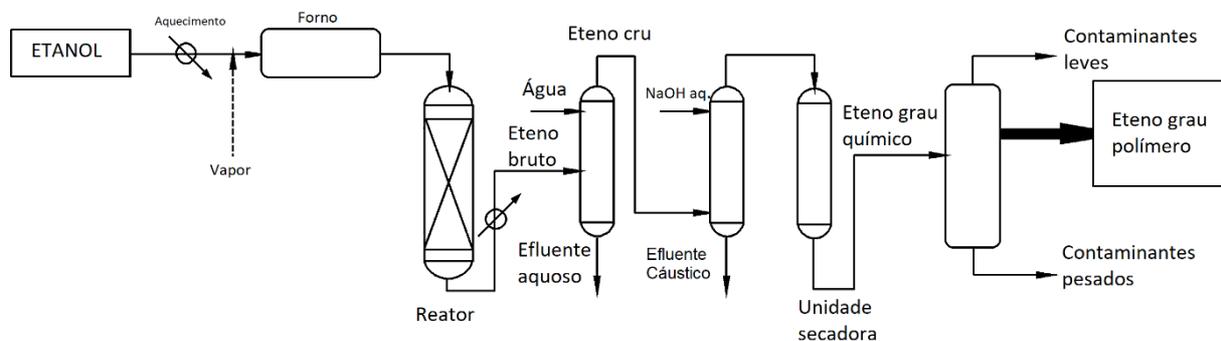


Figura 1 - Fluxograma básico da produção de eteno a partir de etanol (adaptado⁶)

No reator, sob ação de um catalisador específico, o etanol desidrata formando eteno e água como produtos, tendo como intermediário da reação a formação de éter dietílico (DEE), conforme a reação demonstrada na figura 2.⁸



Figura 2 – Esquema da reação da desidratação do etanol

A formação de eteno é favorecida entre as temperaturas de 320 e 500°C. Nessas mesmas condições ocorre paralelamente a formação de acetaldeído e hidrogênio, conforme a reação demonstrada na figura 3.⁹

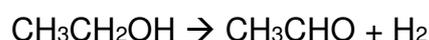


Figura 3 - Formação de acetaldeído e hidrogênio

A reação de desidratação do etanol é dependente do catalisador utilizado, e catalisadores a base de alumina⁸ favorecem a desidratação do etanol formando eteno.

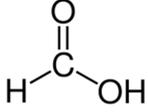
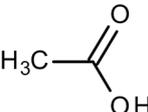
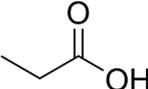
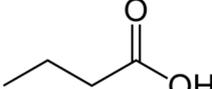
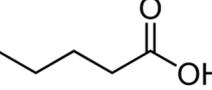
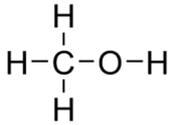
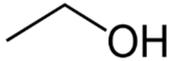
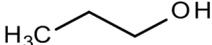
Após a etapa de reação, a corrente é enviada para uma torre de separação, onde são separadas as frações líquida (efluente aquoso) e gasosa (eteno cru). Nesta etapa, é injetada água no topo da torre de separação, para lavar os oxigenados presentes na fração gasosa, arrastando os mesmos para a fração líquida. No fundo da torre é retirado o efluente líquido. A fração líquida resultante é rica em oxigenados e para que possa ser encaminhada para a estação de tratamento de efluentes, a concentração de oxigenados precisa ser decrescida. Dessa forma, após a separação das frações, esse efluente passa por diversas etapas de tratamento, de modo a torná-lo adequado para a estação de tratamento. Somado a isso, todas as correntes resultantes deste tratamento precisam ser analisadas periodicamente de modo a acompanhar a eficácia da purificação.⁶

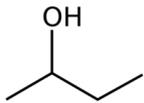
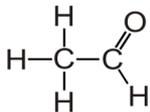
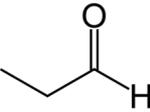
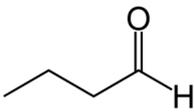
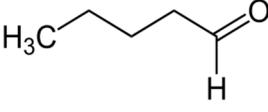
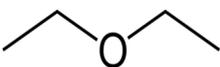
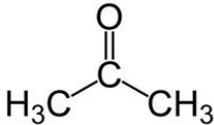
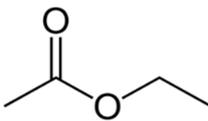
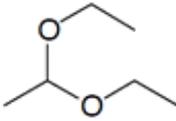
A fração gasosa obtida da torre de separação é denominada eteno cru, pois ainda requer etapas subsequentes de purificação. O eteno cru é lavado com uma solução aquosa de hidróxido de sódio, afim de neutralizar o CO₂ formado no processo. O fundo da torre forma o efluente cáustico que tem tratamento específico e o topo da torre segue para uma etapa de secagem, onde é eliminada a umidade e é obtido o eteno grau químico (96% pureza), ainda com alguns contaminantes presentes.⁶

O eteno para a fabricação de polímero requer pureza elevada (>99,5%). Para alcançar tal pureza, na última torre são separados os contaminantes leves tais como metano, monóxido de carbono e hidrogênio, os quais são removidos no topo da torre. Já no fundo da torre são separados os contaminantes considerados pesados tais como etano, propano, butano e outros hidrocarbonetos. O eteno grau polímero é finalmente obtido e separado no meio da torre.⁶

Todas as frações líquidas provenientes do processo são amostras constituídas de oxigenados em água. A quantificação dos oxigenados nestas correntes é o objetivo deste trabalho, cujos compostos em estudo estão apresentados na tabela I

Tabela I – Características dos compostos oxigenados presentes nas correntes da produção do eteno a partir da desidratação do etanol ^{10,11,12}

Analito	Fórmula/ Massa molar	Estrutura	Características Físico-químicas
Ácido fórmico	CH ₂ O ₂ MM: 46,03 g mol ⁻¹		PE: 101 °C pKa:3,74 Altamente corrosivo
Ácido acético	C ₂ H ₄ O ₂ MM: 60,05 g mol ⁻¹		PE: 118 °C pKa: 4,75 Corrosivo
Ácido propanoico	C ₃ H ₆ O ₂ MM: 74,08 g mol ⁻¹		PE: 141 °C pKa: 4,87
Ácido butanoico	C ₄ H ₈ O ₂ MM: 88,10 g mol ⁻¹		PE: 163 °C pKa: 4,82
Ácido pentanoico	C ₅ H ₁₀ O ₂ MM: 102,13 g mol ⁻¹		PE: 186 °C pKa: 4,82
Metanol	CH ₄ O MM: 32,04 g mol ⁻¹		PE: 64,7 °C
Etanol	C ₂ H ₆ O MM: 46,06 g mol ⁻¹		PE: 78,4°C
Propanol	C ₃ H ₈ O MM: 60,09 g mol ⁻¹		PE: 97°C

2-butanol (SBA- sec butil álcool)	$C_4H_{10}O$ MM: 74,12 g mol ⁻¹		PE: 100°C
Acetaldeído	C_2H_4O MM: 44,05 g mol ⁻¹		PE: 21°C
Propanal	C_3H_6O MM: 44,05 g mol ⁻¹		PE: 48,8°C
Butanal	C_4H_8O MM: 72,11 g mol ⁻¹		PE: 74,8°C
Pentanal	$C_5H_{10}O$ MM: 86,13 g mol ⁻¹		PE: 103°C
Éter Dietílico Diethyl ether (DEE)	$C_4H_{10}O$ MM: 74,12 g mol ⁻¹		PE: 34,6°C
Acetona	C_3H_6O MM: 58,08 g mol ⁻¹		PE: 56°C
Acetato de Etila	$C_4H_8O_2$ MM: 88,105 g mol ⁻¹		PE: 77,1°C
1,1-dietoxi-etano	$C_6H_{14}O_2$ MM: 118,17 g mol ⁻¹		PE: 102,7°C

2.2 Determinação de compostos oxigenados em diferentes matrizes

Considerando os compostos oxigenados descritos na Tabela I, algumas técnicas são descritas na literatura em diferentes matrizes, tais como alimentos, bebidas, efluentes, amostras biológicas, dentre outros.^{13,14,15}

A análise de etanol por cromatografia a gás (GC do inglês, *gas chromatography*) e amostragem por *headspace* (HS) é um método amplamente utilizado para matrizes biológicas, tais como sangue, saliva e urina.^{14,16} O mesmo pode ser dito para a determinação do teor de etanol em vinhos, cachaças, licores e outras bebidas alcoólicas. Concomitante a determinação de etanol por essa metodologia, outros oxigenados associados, tais como metanol e acetaldeído, também são determinados.¹⁵

Monteiro e colaboradores¹⁷ determinaram oxigenados em matrizes biológicas por cromatografia a gás com detector de ionização em chama (FID do inglês flame ionization detector) e amostragem por *headspace*. A separação cromatográfica se deu em duas colunas de diferentes polaridades, o que aumentou a seletividade do método, visto que os tempos de retenção foram confirmados em duas colunas distintas. O método foi validado apresentando Coeficiente de variação relativo (CV) < 7,0 % para a precisão intermediária e exatidão com erro de $\pm 10\%$.

Para a determinação de ácidos orgânicos as técnicas mais utilizadas são cromatografia a gás e cromatografia a líquido de alta eficiência (HPLC do inglês *high performance liquid chromatography*). Ácidos orgânicos de cadeia curta (C2-C5), são determinados principalmente em amostras de efluentes e sucos de fruta.¹⁸ Quando ácidos orgânicos são determinados por cromatografia a gás, esses normalmente necessitam de derivatização ou pré-concentração dos analitos¹⁹, enquanto que se determinados por cromatografia a líquido, não requerem preparo prévio de amostra e podem ser analisados diretamente na fração aquosa, sendo o detector ultravioleta o mais utilizado nestes casos.²⁰

A determinação de ácido acético em amostras aquosas foi desenvolvida por Wittmann e colaboradores¹⁹, onde o ácido acético foi derivatizado com brometo de benzila. O acetato de benzila resultante foi analisado por cromatografia a gás, coluna apolar DB-1 e detector de ionização em chama. A pré-concentração da amostra foi feita por micro extração em fase sólida (SPME do inglês, *Solid Phase Micro extraction*) em fibra de Poliacrilato. A extração do analito foi conduzida na forma *headspace* com a solução saturada de NaCl.

A técnica de cromatografia a líquido de alta eficiência e detector com arranjo de diodos (DAD, do inglês *diodo-array detector*) foi utilizada para a determinação dos ácidos acético, propanoico e butanoico em efluentes de reatores anaeróbios, utilizando coluna apolar C18 (150 x 4,6 mm, 5 µm) da marca Waters. A fase móvel consistiu de uma mistura de metanol e água acidificada na proporção de 10:90 v/v. no modo isocrático. A água utilizada foi acidificada (pH 3,0) devido ao caráter ácido dos compostos. O comprimento de onda de trabalho foi de 220 nm.²¹

Como visto, a literatura apresenta multiplicidade de metodologias e matrizes para a quantificação dos analitos objeto deste trabalho. Na tabela II encontra-se um resumo com as principais técnicas utilizadas para a determinação de ácidos orgânicos e demais compostos oxigenados.

Tabela II - Exemplos da determinação de oxigenados em diversas matrizes apresentados na literatura.

Amostra	Analito	Técnica	Referência
Biológica (sangue, urina)	Éter Dietílico, metanol, acetaldeído, acetato de etila, acetona, propanol.	HS GC-FID (Coluna DB-ALC1 e DB-ALC2)	17
Vinho	Etanol, metanol	FE HS GC-FID (Coluna DB5)	15
Água	Etanol	FE HS GC-FID (Coluna DB5)	22
Amostras biológicas (sangue)	Etanol, acetato de etila, acetaldeído, metanol, acetona	SPME GC-FID e HS GC-FID (Colunas Rtx BAC PLUS 1 e Rtx BAC PLUS 2)	23
Amostras biológicas (sangue, soro)	Etanol, metanol, ácido fórmico (derivatizado)	HS GC-FID (Colunas Rtx BAC PLUS 1 e Rtx BAC PLUS 2)	14
Óleo	Etanol, metanol	HS GC/MS (Coluna VF-WAXms)	24
“Extrato de marisco”	Éter Dietílico, Acetona	HS GC/MS (Coluna Rt-QPLOT)	25
Cachaça	Acetato de etila	GC-FID e GC/MS (Coluna HP-FFAP)	26
Vinho	Ácido acético	HPLC UV (em fase reversa)	20
Água	Ácido fórmico e Ácido acético	HS NTE GC-FID (Coluna Stabilwax-DA)	27
Água	Ácido acético	Derivatização, GC-FID (Coluna DB-1)	19
Sucos de fruta	Ácido (C2-C12)	GC-FID (Coluna Chrompack CP-Wax)	18
Albumina	Etanol	HS GC-FID (Coluna DB-WAX)	28
Omeprazol	Metanol, Acetona	HS GC-FID (Coluna SPB _{TM} -624, Supelco)*	29
Licor fermentado	Etanol, metanol	FE HS GC-FID (coluna HP-5)	30

continuação da tabela II...

Amostra	Analito	Técnica	Referência
Bebidas alcoólicas	Etanol	HPLC-FID (coluna C30 sílica)	13
Água	Etanol	HS GC-FID (coluna DB-5)	31
Biomassa hidrolisada	Ácido fórmico e acético	HS GC-FID (coluna Innowax) Obs: ácidos derivatizados com NaHSO ₄ + etanol	32
Bebidas alcoólicas	Etanol, acetaldeído, metanol, acetato de etila	HS GC/MS (coluna Innowax)	33
Amostras biológicas (saliva)	Etanol	HS GC-FID (Coluna Poraplot-Q)	34
Efluentes, águas residuais	Ácidos orgânicos (C2-C5)	HS GC-FID, Coluna FFAP teste sais: NaCl, Na ₂ HSO ₄	35
Vinho, queijo, amostras biológicas	Ácidos orgânicos (C2-C10)	HS SPME GC-MS/FID, coluna FFAP teste sais: Na ₂ SO ₄ , NaCl, (NH ₄) ₂ SO ₄ , Na ₂ H ₂ PO ₄	36
Efluente bruto	Ácidos orgânicos (C2-C7)	HS SPME GC/MS, coluna FFAP	37
Alimentos líquidos para suínos	Ácidos orgânicos (C2-C4)	HPLC RID, coluna MetaCarb 87H, Fase H ₂ SO ₄ 5mM	38
Queijos	Ácidos orgânicos (C2-C5)	HS SPME GC-FID, coluna FFAP	39
Efluentes de reatores anaeróbios	Ácidos orgânicos (C2-C4)	HPLC-DAD, coluna C18 fase móvel metanol/água (10:90)	21

HS: *Headspace*, GC: Cromatografia gasosa, FID: Detector de ionização em chama, FE: Full Evaporation (evaporação total), SPME: Microextração em fase sólida, MS: Analisador de massas, HPLC: Cromatografia líquida de alta eficiência, UV: Detector ultravioleta, NTE: Needle Trap, * Coluna de média polaridade, proprietary phase, RID – Detector de índice de refração

2.3 Metodologias analíticas

2.3.1 Preparo da amostra por amostragem *Headspace*

A análise por *headspace* é definida como uma extração gás-líquido ou gás-sólido, ou seja, é utilizada para a determinação de compostos voláteis em amostras líquidas e sólidas. A amostra é armazenada em um frasco de *headspace* e lacrada, depois é aquecida a temperatura determinada até atingir o equilíbrio entre as fases. Os analitos presentes na fase gasosa são coletados, injetados e analisados em um cromatógrafo a gás. ²⁸

O *headspace*, pode ainda trabalhar associado com a técnica de microextração em fase sólida, denominada SPME, do inglês *Solid Phase Micro Extraction*, que tem por objetivo a pré-concentração dos analitos para aumento da sensibilidade do método.⁴⁰ A temperatura e o volume de amostra são os principais fatores que afetam a eficiência dessa extração. A otimização da metodologia irá depender das características dos analitos, tais como a volatilidade, polaridade e afinidade com a matriz. ⁴¹

A figura 4 ilustra o equilíbrio entre as fases gasosa e líquida no *headspace*, sendo coeficiente de partição (K) definido como a razão entre a concentração do analito na fase líquida e a concentração do analito na fase gasosa.⁴²

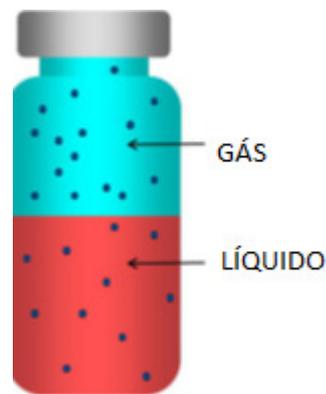


Figura 4 - Representação do equilíbrio de fases no *headspace*⁴²

No caso de matrizes aquosas, é muito utilizado o efeito *salting out*, o qual aumenta a disponibilidade de analitos na fase gasosa, por meio da adição de sais tais como NaCl, Na₂SO₄, Na₂H₂PO₄. Os sais dissociados na água diminuem a interação dos analitos com a matriz devido a solvatação dos íons na água promovendo a passagem dos analitos da fase líquida para a fase gasosa. ⁴³

2.3.2 Cromatografia a gás

A cromatografia a gás é aplicada na análise de compostos voláteis, onde a amostra é vaporizada no injetor do equipamento, sendo os analitos carregados pelo gás de arraste (fase móvel) para a coluna cromatográfica (fase estacionária). Os analitos são separados na fase estacionária de acordo com a sua interação/afinidade com a mesma e conduzidos até o detector pelo gás de arraste. O sinal gerado no detector é captado por uma interface e o cromatograma é gerado, a integração dos picos são tratados por softwares específicos.⁴⁴ Na Figura 5 é apresentado um esquema básico de um sistema cromatográfico a gás.

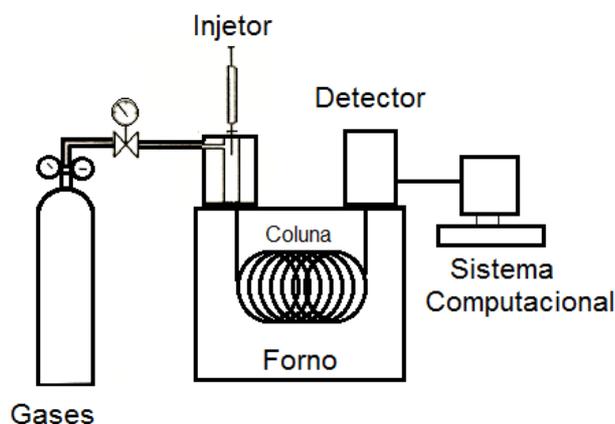


Figura 5 - Esquema básico de um sistema analítico em cromatografia gasosa

Os tipos de colunas mais utilizados, atualmente, na cromatografia a gás, são as colunas capilares de diâmetros internos de 0,15 a 0,32 mm e as *megabore* de diâmetro de 0,55 mm, com comprimentos variando de 10 a 100 metros. Juntamente a esses tipos de colunas, o uso de injetores do tipo *split/splitless*, são amplamente utilizados, sendo o modo *split*, modo com divisão de amostra e o *splitless* sem divisão. O modo *splitless* é aplicável a análises de traços, amostras cuja concentração dos analitos estão em muito baixo valor e o modo *split* para análises de amostras mais concentradas.⁴⁵

Diversos tipos de detectores podem ser utilizados na cromatografia a gás, o detector de ionização em chama (FID) é o mais comumente utilizado na análise de compostos orgânicos. Nesse detector o gás efluente da coluna chega até o detector e é queimado em uma chama, produzida pela combustão de hidrogênio e ar, formando íons do analito. Estes íons quando passam entre os eletrodos coletores provocam uma variação no sinal elétrico, que é amplificado, convertido em voltagem e captado

pelo registrador. O sinal é proporcional a concentração, e quanto maior a concentração dos íons, maior o sinal, sendo possível desta forma quantificar os compostos detectados.⁴⁶

2.3.3 Cromatografia a líquido

A cromatografia a líquido é uma técnica de separação onde o analito interage com duas fases imiscíveis, a fase móvel e a fase estacionária, sendo a fase móvel obrigatoriamente um líquido. Essa técnica é uma alternativa para os analitos que não podem ser analisados por cromatografia a gás, sendo o caso de compostos não voláteis e termicamente instáveis.⁴⁷ Com o desenvolvimento da tecnologia, foi permitido trabalhar com colunas de baixo diâmetro e fases estacionárias de diâmetros de 5 Å ou menor, o que exigiu bombas de altas pressões para o escoamento da fase móvel. Tais sistemas foram denominados de cromatografia a líquido de alta eficiência, HPLC, do inglês *High Performance Liquid Chromatography*, devido a excelente separação cromatográfica apresentada.

O sistema HPLC pode ser montado em módulos. A figura 6 mostra um esquema básico de um cromatógrafo a líquido de alta eficiência. A fase móvel, solvente ou eluente é armazenado em um frasco, de onde é aspirado por uma bomba de alta pressão em direção a coluna. A amostra é introduzida no sistema por uma válvula de injeção e levada pela fase móvel até a coluna onde ocorre a separação. O efluente da coluna é direcionado para o detector e o sinal gerado, através de um software de tratamento de dados fornecerá um cromatograma, ou seja, um gráfico do sinal do detector em função do tempo de análise transcorrido.⁴⁷

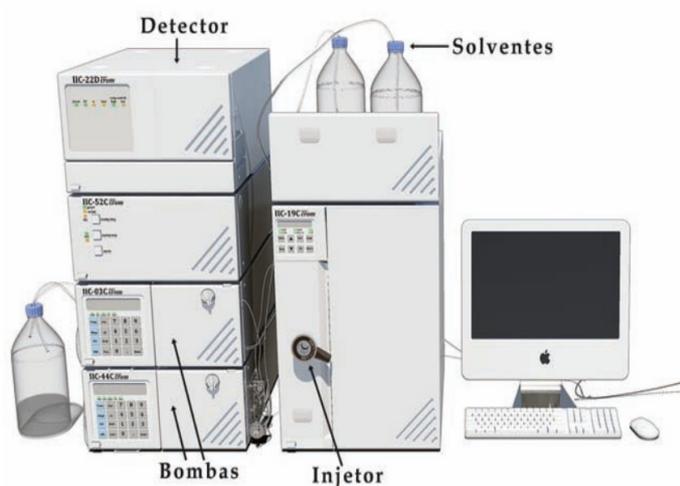


Figura 6 - Esquema básico de um sistema analítico em cromatografia líquida

O sistema em módulos apresenta a vantagem de permitir acoplar vários detectores em uma mesma coluna. Há uma gama bem ampla de detectores para essa técnica, sendo os de Índice de Refração, Ultravioleta, Espalhamento de Luz, e Fluorescência os mais utilizados, principalmente para análises quantitativas.

2.3.4 Cromatografia associada a espectrometria de massas

A espectrometria de massas aliada a cromatografia é uma ferramenta valiosa. Essa união combina eficiência de separação e fornece a informação estrutural do analito. As técnicas mais comuns de acoplamento do espectro de massas são a cromatografia a gás e a cromatografia a líquido de alta eficiência.

No caso do cromatógrafo a gás, o espectrômetro de massas pode ser facilmente acoplado ao sistema já que as características de funcionamento são compatíveis. Enquanto que na cromatografia a líquido, algumas incompatibilidades atrasaram o desenvolvimento da união destas duas técnicas, como por exemplo a alta pressão do eluente no final da coluna enquanto o espectrômetro trabalha em alto vácuo, além do maior volume de eluente na coluna. O avanço da técnica foi possível devido a algumas mudanças na forma de acoplamento, como por exemplo o uso de divisores de fluxo, onde a parte da amostra é desprezada antes de ser ionizada. E o desenvolvimento de outras técnicas de ionização, como a ionização a pressão atmosférica, permitiu a combinação das duas técnicas.⁴⁸

A análise por espectrometria de massas ocorre em três etapas: ionização dos analitos, separação dos íons formados por razão massa/carga (m/z) e a detecção. A energia restante da ionização pode causar a fragmentação das moléculas. Os fragmentos gerados são enviados para o analisador de massas, que separa os íons resultantes por razão massa/carga (m/z). O detector funciona como um multiplicador de elétrons e amplifica o sinal. Esses dados compõem o espectro de massas, que pode ser comparado com espectros de bibliotecas e fornecer a informação da estrutura da molécula.⁴⁹

2.4 Validação de métodos analíticos

A validação da metodologia analítica tem por objetivo confirmar, através de testes e evidências, que os requisitos específicos necessários a um determinado uso pretendido são atendidos. Os parâmetros geralmente utilizados para validação de métodos de separação incluem seletividade, linearidade, precisão, exatidão, limite de detecção e limite de quantificação.⁵⁰

2.4.1 Seletividade

A seletividade é o principal parâmetro de avaliação em métodos cromatográficos, pois indica a presença de interferentes, coeluições e efeito de matriz. A determinação da seletividade garante que o pico obtido é unicamente do analito de interesse. Este parâmetro interfere na linearidade e recuperação do método analítico, por isso normalmente é um dos primeiros parâmetros a ser avaliado.^{50,51}

A seletividade pode ser obtida de várias maneiras, como por exemplo a partir da utilização de detectores do tipo arranjo de diodos ou espectrômetro de massas. Nesse caso, avalia-se a pureza do pico e a presença de outras substâncias pode ser identificada. Outra forma de determinar a seletividade é através da comparação de curvas analíticas. Para tal, é construída uma curva analítica com a própria amostra, fortificando-a com os analitos de interesse, e uma outra curva analítica sem a presença da matriz, ou seja, solvente e analitos. Se as retas obtidas forem paralelas, demonstra que não há interferência da matriz na substância de interesse e o método é considerado seletivo.^{50,51}

2.4.2 Linearidade e faixa de trabalho linear

A linearidade é a capacidade de uma metodologia produzir resultados analíticos proporcionais à concentração do analito de interesse na faixa de trabalho necessária para a amostra investigada. A linearidade é obtida a partir da determinação do coeficiente de correlação (r) e do coeficiente de determinação (R^2), onde se avalia a correlação do sinal medido e a concentração do analito. A curva analítica é construída com no mínimo 5 níveis de concentração. O valor aceito para o coeficiente de correlação (r) deverá ser maior que 0,99, e o valor para o R^2 maior que 0,98.^{50,52,53}

A faixa de trabalho do método é construída a partir dos valores dos limites de detecção (LD) e quantificação (LQ). O LD e o LQ do método, estabelecem o limite inferior da faixa de trabalho e o limite superior será o ponto em que a concentração

não mais demonstrar comportamento linear. O limite superior pode ser determinado por análise visual no gráfico somado a avaliação dos coeficientes (r) e R^2 , que quanto mais próximo de 1, demonstra maior correlação da resposta com a concentração.⁵⁴

2.4.3 Precisão

A precisão representa a dispersão dos resultados de uma mesma amostra ou de um padrão, analisado diversas vezes em condições semelhantes. Uma das formas de avaliação da precisão é através da estimativa do desvio padrão relativo (RSD%), também conhecido como coeficiente de variação (CV%). O CV% é calculado conforme equação 1, onde S é o desvio padrão das medidas e M é a média aritmética dos resultados.⁵⁵

$$CV(\%) = \frac{S}{M} \times 100 \quad (\text{Equação 1})$$

A precisão é avaliada em três níveis, os quais são: repetitividade, precisão intermediária e reprodutibilidade.⁵⁶

A repetitividade demonstra a concordância de resultados sob as mesmas condições de medição, ou seja, mesmo procedimento, mesmo equipamento, mesmo analista em um curto intervalo de tempo.⁵⁶

A precisão intermediária demonstra as variações dentro do mesmo laboratório, onde um ou mais fatores são alterados e avalia-se o coeficiente de variação. A precisão intermediária é mais representativa para a variação dos resultados dentro do mesmo laboratório.⁵⁶

A reprodutibilidade irá avaliar a concordância dos resultados em diferentes condições de análise. A forma mais comum de avaliar a reprodutibilidade é envolvendo diversos laboratórios em estudos colaborativos em programas interlaboratoriais.^{52, 56}

2.4.3 Exatidão

A exatidão é definida como a concordância entre o valor medido e o valor de um material de referência ou valor dito verdadeiro. Quatro métodos são geralmente utilizados para avaliar a exatidão: a) uso de MRC (material de referência certificado); b) comparação do método proposto com um método normalizado; c) comparação

entre laboratórios por meio de estudos colaborativos; e d) por ensaios de recuperação.⁵⁰

Dependendo do ensaio, não existem métodos normalizados e nem MRC disponíveis. A comparação entre laboratórios implica na aceitação de outros laboratórios dispostos a avaliar a mesma metodologia. Devido à dificuldade dos métodos citados acima, o ensaio de recuperação normalmente é o mais utilizado para avaliação da exatidão.⁵⁷

O ensaio de recuperação consiste na adição do analito em quantidade conhecida na amostra. A quantidade recuperada é calculada conforme equação 2.⁵¹

$$\textit{Recuperação} = \frac{C1-C2}{C3} \times 100 \quad (\text{Equação 2})$$

Onde:

C1 = concentração do analito na amostra fortificada

C2 = concentração do analito na amostra não fortificada

C3 = concentração do analito adicionado na amostra fortificada

2.4.4 Limite de detecção e limite de quantificação

O limite de detecção trata-se da menor quantidade do analito que pode ser detectado pelo método, mas não necessariamente quantificado para as condições estabelecidas no ensaio. O limite de quantificação trata da menor quantidade do analito na amostra que pode ser quantificada com precisão e exatidão aceitáveis.^{50,51}

Segundo recomendação do Inmetro, o cálculo dos limites de detecção e quantificação devem ser calculados para os analitos a nível de traços. O LD e LQ podem ser calculados por vários métodos.^{50,53}

No método de avaliação e percepção visual, são realizadas sucessivas diluições até que se consiga diferenciar o sinal do analito do sinal do branco. Também poderá ser estimado a partir da curva analítica, pelo desvio padrão do branco ou ainda pela curva dos desvios padrão. A escolha do cálculo será de acordo com a técnica analítica utilizada.⁵³

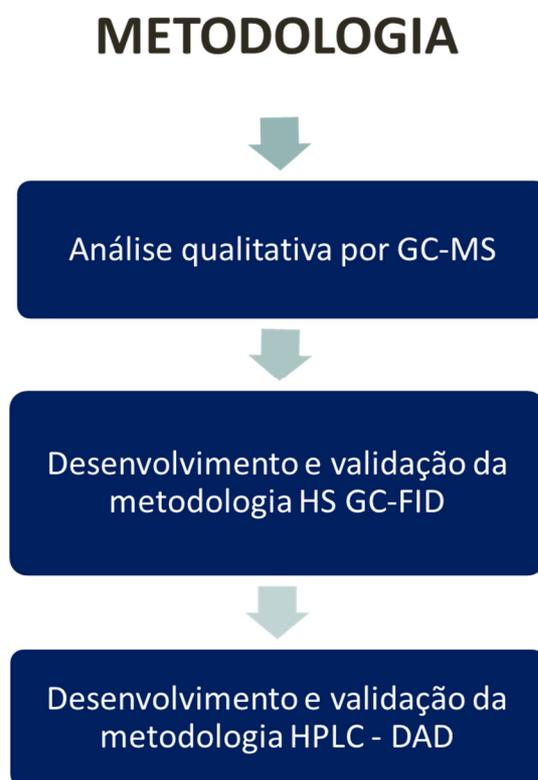
Quando o equipamento apresentar ruído na linha de base, os limites poderão ser calculados pela relação sinal/ruído. Para o LD a relação sinal/ruído utilizada é de

3:1 ou 2:1 e para LQ a relação utilizada é 10:1, podendo ser utilizada também as relações 6:1 ou 5:1.⁵³

Há ainda o método do branco adicionado do padrão⁵⁰. No caso de amostras aquosas, será água ultrapura adicionado dos analitos em estudo. Esse método considera o desvio padrão obtido a partir de sete replicatas multiplicado pelo valor do *t-student*, tabelado de acordo com o nível de confiança. Por exemplo, o valor de *t-student* para 7 replicatas e nível de confiança 99% será de 3,143.⁵⁰

3 PARTE EXPERIMENTAL

A parte experimental foi desenvolvida em três etapas, conforme ilustrado no fluxograma abaixo:



Primeira etapa foi a identificação qualitativa da composição da amostra, a qual foi realizada utilizando a técnica de cromatografia a gás e analisador de massas.

Após a identificação dos compostos e revisão bibliográfica, se definiu qual metodologia de quantificação seria mais adequada para cada um dos analitos identificados, tal escolha, foi realizada de acordo a natureza dos analitos. Duas técnicas foram selecionadas para a quantificação dos compostos: a técnica de cromatografia a gás com detector de ionização em chama e amostragem por headspace, e a técnica de cromatografia a líquido com detector de arranjo de diodos.

As duas técnicas foram testadas para definição das melhores condições analíticas e após foram validadas. Os equipamentos, condições analíticas e a validação são detalhadas na sequência.

3.1 Equipamentos e materiais

Os equipamentos e materiais utilizados para o desenvolvimento do presente trabalho estão descritos a seguir:

- a. Cromatógrafo a gás Perkin Elmer Auto System XL equipado com amostrador do tipo *headspace*, injetor do tipo *split* e detector de ionização em chama.
- b. Coluna capilar *FFAP* (fase estacionária polar de polietileno glicol modificada com ácido nitrotereftálico) 50 m de comprimento, 0,2 mm de diâmetro e 0,33 µm de espessura de filme, da marca Agilent.
- c. Gases utilizados no cromatógrafo a gás com detector FID: nitrogênio 4.6 (99,996%) utilizado como gás de arraste, hidrogênio 4.5 (99,995%) e ar sintético utilizados no detector.
- d. Cromatógrafo a gás da marca Agilent Modelo 7890 acoplado ao espectrômetro de massas com analisador do tipo quadrupolo, modelo 5977A.
- e. Coluna capilar *DB-WAX_(ms)* (fase estacionária polar de polietileno glicol), dimensões: 30 m de comprimento x 0,25 mm de diâmetro x 0,5 µm de espessura de filme, da marca Agilent.
- f. Gás de arraste no cromatógrafo a gás acoplado ao espectro de massas: Hélio 5.0.
- g. Cromatógrafo a líquido Shimadzu, Modelo 10A, equipado com detector de UV com arranjo de diodos.
- h. Coluna Aminex HPX87H (troca iônica), 300 mm x 7,8 mm da marca Biorad.

Para o preparo da fase móvel para análise por cromatografia a líquido, foi utilizado H₂SO₄ 95% da marca Merck e água ultrapura obtida do sistema Milli-Q.

As soluções de trabalho foram preparadas a partir dos reagentes puros: éter dietílico (DEE) 99,7%, acetaldeído 99,0%, propanal 99,8%, acetona 99,9%, butanal 99,8%, acetato de etila 99,5%, metanol 99,9%, etanol 99,9%, pentanal 99,8%, 2-butanol 99,0%, propanol 99,9%, ácido acético 99,9%, ácido propanoico 99,0%, ácido butanoico 99,0% e ácido pentanoico 99,0%. Todos os padrões foram da marca Merck com exceção do ácido fórmico 98,0% que foi da marca Sigma Aldrich.

3.2 Preparo dos padrões

3.2.1 Padrões de oxigenados

As amostras provenientes do processo de produção do eteno a partir do etanol, possuem concentrações variadas dos compostos oxigenados avaliados. A partir do histórico de resultados de amostras dos diversos pontos do processo, analisadas pela metodologia adaptada do ASTM D3695/95, determinou-se as faixas de trabalho para cada composto, conforme demonstrado na Tabela III. Essa faixa engloba todas as amostras aquosas que necessitam da determinação de oxigenados.

Tabela III - Faixa de trabalho dos compostos oxigenados estabelecidas pelo histórico das análises na empresa

Analito	Faixa de trabalho (mg kg ⁻¹)
Éter Dietílico (DEE)*	10 - 80
Acetaldeído	500 - 5000
Propanal	10 - 80
Acetona	10 - 80
Butanal	10 - 80
Acetato de etila	5 - 40
Metanol	1500 - 12000
Etanol	5000 - 40000
Pentanal	5 - 40
2-butanol	5 - 40
Propanol	5 - 40

*DEE (Diethyl ether) = Éter Dietílico

Para o preparo das soluções de trabalho, uma solução estoque contendo Éter Dietílico, propanal, acetona, butanal, acetato de etila, pentanal, 2-butanol e propanol foi preparada adicionando uma quantidade conhecida de cada oxigenado em água ultrapura. As soluções de trabalho foram preparadas medindo a massa da solução estoque dos oxigenados descritos acima. A concentração individual de cada analito nos cinco pontos da curva em água ultrapura está descrita na tabela IV.

Tabela IV - Concentração dos padrões para cada ponto da curva de calibração

Analito	Soluções (mg kg ⁻¹)				
	1	2	3	4	5
Éter Dietílico	11	22	38	60	73
Acetaldeído	501	1567	2371	4550	3059
Propanal	10	20	37	57	73
Acetona	10	20	37	57	73
Butanal	11	20	37	57	73
Acetato de etila	5	10	20	28	38
Metanol	1916	3838	7413	11969	13447
Etanol	4723	9235	18374	28703	34043
Pentanal	6	11	22	31	42
SBA	5	10	20	30	38
Propanol	6	11	21	31	41

Para os testes de seletividade e recuperação, uma amostra do processo foi fortificada com a solução estoque de oxigenados. Na tabela V está descrita a concentração individual de cada analito nos cinco pontos da curva.

Tabela V - Concentração adicionada de cada analito na matriz (amostra processo).

Analito	Soluções (mg Kg ⁻¹)				
	1	2	3	4	5
Éter Dietílico	11	22	40	62	78
Acetaldeído	688	1355	2651	2971	4617
Propanal	11	22	40	62	78
Acetona	11	22	40	62	78
Butanal	11	22	40	62	78
Acetato de etila	6	11	21	32	41
Metanol	2108	4196	7881	11096	14517
Etanol	5405	10227	19553	26819	35876
Pentanal	6	13	23	36	45
SBA	6	11	21	32	41
Propanol	6	12	23	35	44

3.2.2 Padrões de ácidos orgânicos

Para os padrões de ácidos orgânicos, uma solução estoque contendo ácido fórmico, ácido acético, ácido propanoico, ácido butanoico e ácido pentanoico foi confeccionada em água ultrapura (metanol foi utilizado para melhorar a solubilidade do ácido pentanoico). As soluções de trabalho foram preparadas pelas diluições sucessivas da solução estoque em água ultrapura. No caso dos ácidos orgânicos, não existia um histórico de resultados, então se optou por construir três curvas de calibração, de baixa, média e alta concentração. Na tabela VI, estão descritas as concentrações trabalhadas.

Tabela VI - Faixa de trabalho dos ácidos orgânicos em estudo.

Faixa de concentração	Pontos da curva (mg L ⁻¹)
Baixa	2, 4, 6, 8, 10, 12,15
Média	15, 30, 45, 60, 75, 90, 100
Alta	100, 200, 300, 400, 500, 600, 700

Da mesma forma, para os testes de recuperação dos ácidos orgânicos, uma amostra do processo foi fortificada com a solução estoque de ácidos e foi calculada a quantidade recuperada.

3.3 Condições analíticas

3.3.1 Metodologia de análise por cromatografia a gás com detector de massas (GC-MS)

A análise qualitativa da amostra foi realizada por cromatografia a gás acoplada a espectroscopia de massas. Na tabela VII estão descritas as condições analíticas utilizadas para a realização da análise.

Tabela VII - Condições analíticas do cromatógrafo com detector de massas

Parte do cromatógrafo	Condições analíticas	
Injetor <i>Split/Splitless</i>	Razão do split	1:2
	Temperatura	250°C
	Volume injetado	250uL

Forno/Coluna	Rampa	40°C por 5 min 10°C min ⁻¹ até 200°C 200°C por 20 min
Detector MS	Temperatura MS Fonte Temperatura MS Quadrupolo Temperatura “ <i>transferline</i> ” Energia de ionização Monitoramento de massas	250°C 200°C 300°C 70 eV Modo Scan

3.3.2 Metodologia de análise por cromatografia a gás com detector de ionização em chama e amostragem headspace (HS GC-FID)

A metodologia para quantificação dos compostos oxigenados foi realizada por amostragem em headspace e análise por cromatografia a gás e detector de ionização em chama. As condições analíticas estão descritas na tabela VIII.

Tabela VIII - Condições analíticas da análise por cromatografia a gás com detector de ionização em chama e amostragem *headspace*.

Parte do cromatógrafo	Condições analíticas	
<i>Amostrador Headspace</i>	Tempo de equilíbrio	20 minutos
	Temperatura de equilíbrio	85°C
	Temperatura <i>needle</i>	110°C
	Temperatura <i>transferline</i>	120°C
	Pressão HS	34,5 psi
	Tempo de pressurização	3 minutos
<i>Injetor Split/Splitless</i>	Razão do Split	1:100
	Temperatura	280°C
	Fluxo de purga do septo	3 mL min ⁻¹
	Pressão do injetor	30 psi
Forno/Coluna	Rampa	40°C por 5 min 10°C min ⁻¹ até 200°C 200°C por 4 min

Detector FID	Temperatura	300°C
	Fluxo de H ₂	30 mL min ⁻¹
	Fluxo de ar	300 mL min ⁻¹

Antes da validação da metodologia, foram realizados testes para otimização do volume de amostra, temperatura de equilíbrio, pH e a utilização dos sais Na₂SO₄ e NaCl para avaliação do efeito *salting out*. Para o desenvolvimento dos testes foram preparados padrões mistos de oxigenados a baixa concentração, ou seja: aproximadamente 50 mg kg⁻¹ de etanol, que se encontra em maior concentração na amostra, e 25 mg kg⁻¹ para os demais oxigenados. Na tabela IX, estão descritas as condições dos testes para a otimização das condições do headspace.

Tabela IX - Variáveis e valores da otimização da amostragem por headspace

Variável	Teste
Volume do frasco	20 mL
Volumes de amostra	2 e 5 mL
Temperatura	80 e 85°C
Adição de sais	NaCl (0,5 e 1,0g) Na ₂ SO ₄ (0,5 e 1,0g)

3.3.3 Metodologia de análise por cromatografia a líquido de alta eficiência com detector de arranjo de diodos (HPLC-DAD)

Para quantificação dos ácidos orgânicos, foi escolhida a técnica por cromatografia a líquido com detector de arranjo de diodos. As condições analíticas utilizadas estão descritas na tabela X.

Tabela X - Condições analíticas para o HPLC

Fase móvel	H ₂ SO ₄ 0,5 mM
Modo	Isocrático
Fluxo fase móvel	0,6 mL min ⁻¹
Temperatura do forno	40°C
Volume de injeção	20 µL

3.4 Validação da metodologia

Para a validação de ambas as metodologias propostas, foram avaliados os seguintes parâmetros de desenvolvimento analítico: linearidade, seletividade, precisão, exatidão, limite de detecção e limite de quantificação.

3.4.1 Linearidade

Para a análise dos oxigenados por cromatografia a gás, partiu-se do histórico da empresa dos resultados das análises obtidos a partir da metodologia adaptada do ASTM3695/95. Com base nesses resultados, a concentração mediana das amostras foi considerada como o ponto central de uma curva de cinco pontos. Dessa forma foram preparados dois níveis acima (1,5 e 2 vezes) e dois níveis abaixo (0,5 e 0,25) do ponto central, totalizando cinco níveis de concentração. Duas curvas de calibração foram preparadas, uma curva foi preparada em água ultrapura, (matriz isenta das substâncias de interesse), e uma outra preparada por adição de padrão, utilizando a amostra de interesse acrescida da adição de quantidades conhecidas dos oxigenados em estudo. As análises foram realizadas em triplicata considerando a área média de cada analito para construção da curva de calibração e avaliação da linearidade.

Para a análise dos ácidos orgânicos, a linearidade foi avaliada em três níveis de concentração. As curvas foram construídas conforme descrito na tabela VI do item 3.2.2 no preparo dos padrões. As análises foram realizadas em triplicata considerando a área média de cada analito para construção da curva de calibração e avaliação da linearidade.

3.4.2 Seletividade

A seletividade da metodologia GC-FID foi determinada a partir da comparação do coeficiente angular da curva obtida em água ultrapura e o coeficiente angular da curva obtida da matriz fortificada com oxigenados de interesse. A seletividade da metodologia HPLC-DAD foi determinada pela avaliação da pureza espectral dos padrões de ácido adicionados na matriz.

3.4.3 Precisão

A precisão foi avaliada em nível de repetitividade e precisão intermediária. Para o cálculo da repetitividade, uma amostra padrão foi analisada sete vezes no mesmo dia e nas mesmas condições analíticas e o CV% entre as repetições foi avaliado.

Para o cálculo da precisão intermediária o mesmo procedimento foi adotado, porém foram realizadas 18 replicatas e as análises foram realizadas em dias alternados. Este método foi aplicado para as metodologias HS GC-FID e HPLC-DAD.

3.4.4 Exatidão

A metodologia adotada para avaliar a exatidão foi o estudo de recuperação. A partir da matriz fortificada com quantidades conhecidas dos analitos de interesse e foi avaliada a quantidade recuperada dos analitos em três níveis de concentração e todas as análises foram realizadas em triplicata. O método foi aplicado para as metodologias HS GC-FID e HPLC-DAD.

3.4.5 Limite de detecção

O limite de detecção foi estimado pelo método sinal/ruído, comparando-se o ruído da linha base próximo ao sinal do analito em questão. Para o limite de detecção foi utilizada a relação sinal/ruído de 3:1. O sinal do ponto de menor concentração da curva de calibração foi utilizado para o cálculo do limite de detecção das metodologias HS GC-FID e HPLC-DAD.

3.4.6 Limite de quantificação

O limite de quantificação foi estimado pelo método do sinal/ruído, comparando-se o ruído da linha base próximo ao sinal do analito em questão. Para o limite de quantificação foi utilizada a relação sinal/ruído de 10:1. O sinal do ponto de menor concentração da curva de calibração foi utilizado para o cálculo do limite de quantificação das metodologias HS GC-FID e HPLC-DAD.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Análise qualitativa da amostra

A amostra avaliada para análise qualitativa é proveniente do último estágio de reação da desidratação do etanol, antes da torre de separação. Este ponto foi escolhido para investigação devido a corrosão acentuada observada tanto na saída do reator como na torre de separação. A análise qualitativa foi realizada por GC-MS no modo SCAN, conforme condições descritas em 3.3.1 e os principais compostos oxigenados identificados conforme apresentado na figura 7.

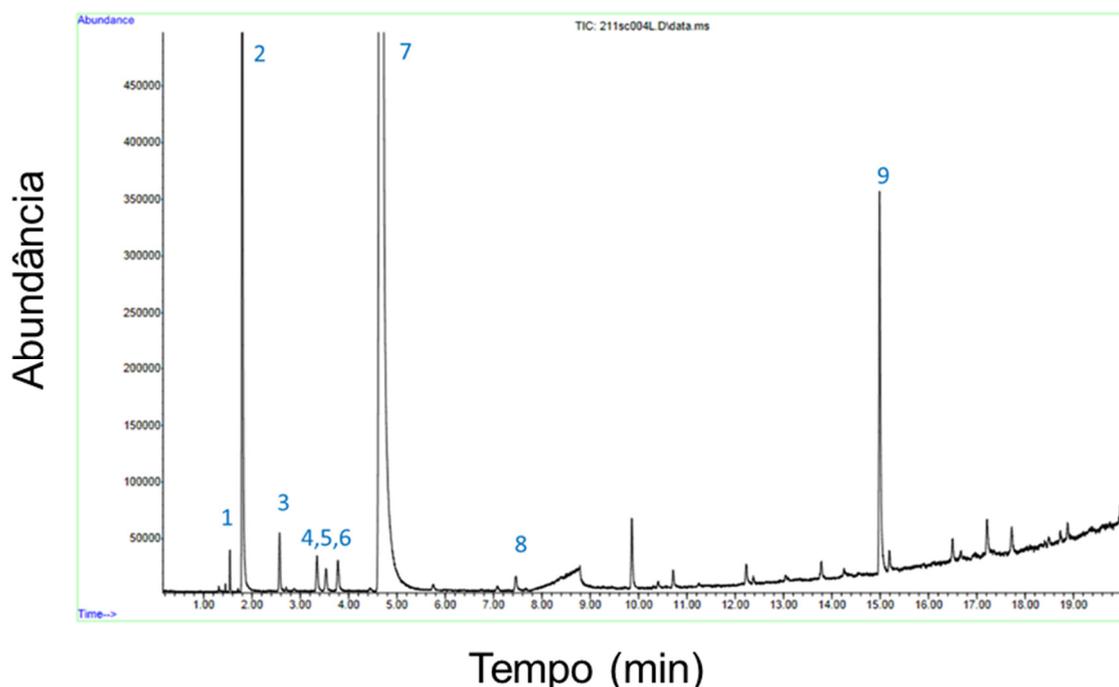


Figura 7 - Identificação dos analitos por GC/MS da amostra investigada: (1) Éter Dietílico, (2) acetaldeído, (3) acetona, (4) butanal, (5) acetato de etila, (6) metanol, (7) etanol, (8) 2-butanol, (9) ácido acético.

Foram identificados, os compostos Éter Dietílico, acetaldeído, acetona, butanal, acetato de etila, metanol, etanol, 2-butanol e ácido acético. Os demais picos observados, em menor concentração, são hidrocarbonetos provenientes da contaminação do transporte da matéria-prima de partida, o etanol. O etanol é transportado até a unidade industrial em vagões que também transportam diesel e biodiesel, o que explica a procedência da contaminação.

A partir desta identificação foram desenvolvidas as metodologias quantitativas mais sensíveis e/ou menos trabalhosas, ou seja, cromatografia a gás com detector de ionização em chama e amostragem por headspace para os compostos identificados de 1 a 8, e a análise por cromatografia a líquido de alta eficiência com detector de arranjo de diodos para o ácido acético.

4.2 Desenvolvimento da metodologia HS GC-FID

A partir da análise realizada por GC/MS, foi preparada uma solução padrão com os oxigenados identificados para verificação do tempo de retenção dos mesmos. A Figura 8 apresenta o cromatograma da solução padrão analisada por cromatografia a gás com detector de ionização em chama e amostragem por *headspace*, nas condições descritas na Tabela VIII. E a Tabela XI apresenta os tempos de retenção de cada analito.

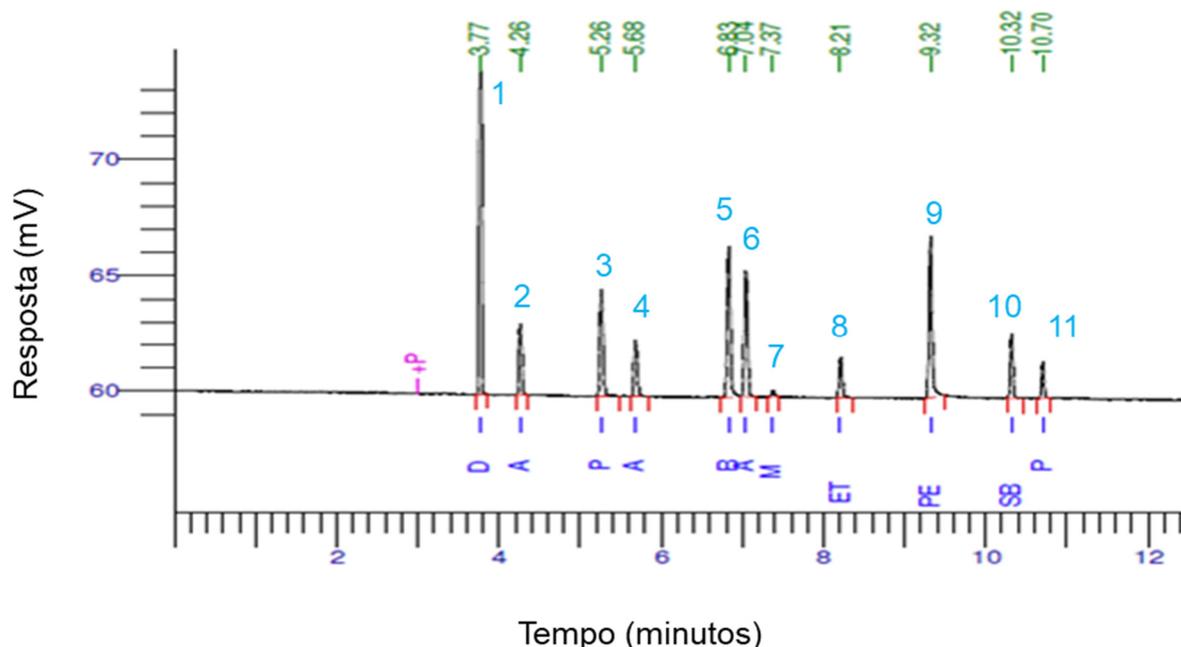


Figura 8 - Cromatograma dos padrões analisados pela técnica de cromatografia a gás com detector de ionização em chama e amostragem por *headspace*: (1) DEE, (2) Acetaldeído, (3) Propanal, (4) Acetona, (5) Butanal, (6) Acetato de Etila, (7) Metanol, (8) Etanol, (9) Pentanal, (10) 2-butanol (SBA), (11) Propanol

Tabela XI - Tempos de retenção dos compostos oxigenados em estudo, nas condições de análises apresentadas na Tabela VIII.

Tempo de retenção (min)	Composto	Tempo de retenção (min)	Composto
3,77	Éter Dietílico (DEE)	7,37	Metanol
4,26	Acetaldeído	8,21	Etanol
5,26	Propanal	9,32	Pentanal
5,68	Acetona	10,32	2-butanol (SBA)
6,83	Butanal	10,70	Propanol
7,04	Acetato de etila		

A Figura 9 apresenta o cromatograma da amostra do processo analisada por cromatografia a gás com detector de ionização em chama e amostragem por *headspace*, nas condições descritas na Tabela VIII.

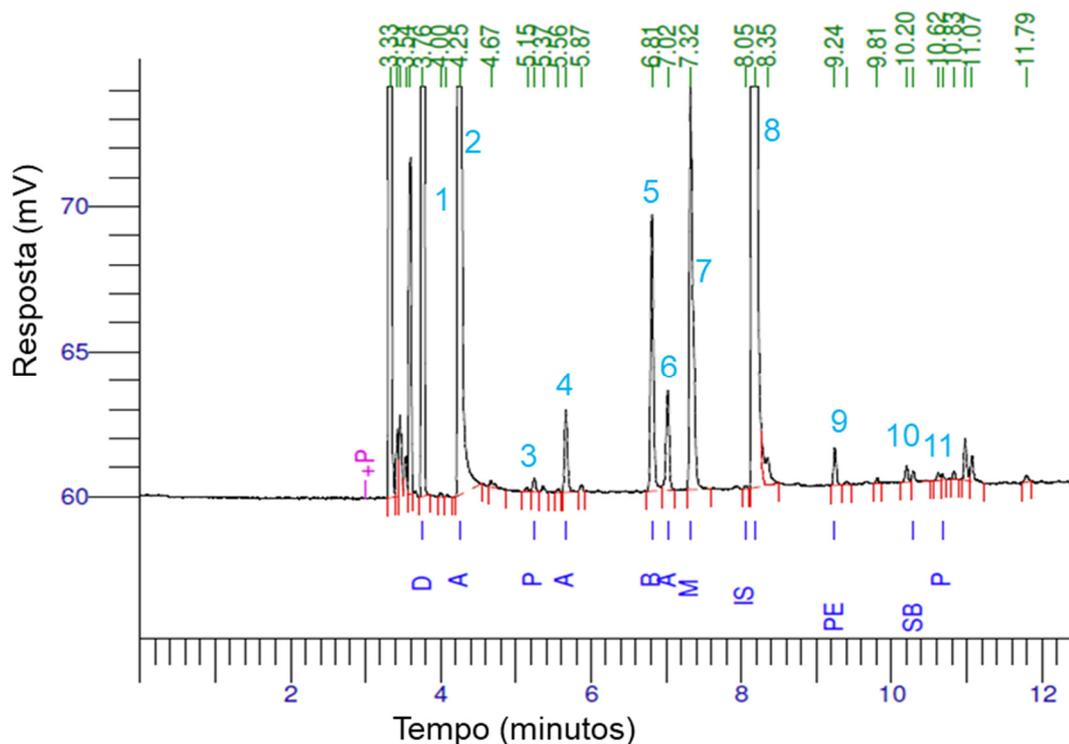


Figura 9 - Cromatograma da amostra coletada do processo de produção de eteno a partir do etanol e analisada por cromatografia a gás com detector de ionização em chama e amostragem por *headspace*: (1) DEE, (2) Acetaldeído, (3) Propanal, (4) Acetona, (5) Butanal, (6) Acetato de Etila, (7) Metanol, (8) Etanol, (9) Pentanal, (10) 2-butanol (SBA), (11) Propanol

Analisando o cromatograma da Figura 9, se verifica a predominância de etanol não reagido, bem como a dos compostos Éter Dietílico e acetaldeído, os quais são os principais subprodutos formados na desidratação do etanol. Outros oxigenados também foram detectados, visto que são formados devido as impurezas presentes no etanol de usina utilizado no processo, tais como: os álcoois metanol, propanol, 2-butanol; os aldeídos propanal, butanal, pentanal; acetona e acetato de etila, confirmando os dados apresentados na literatura.⁶ Além disso, pode-se observar a presença dos principais compostos oxigenados identificados nas amostras do processo por GC-MS, indicando a eficiência dessa técnica para uma análise quantitativa.

4.3 Otimização da amostragem por headspace

4.3.1 Efeito do volume de amostra

Na figura 10, estão apresentados os valores de resposta (área/concentração) de cada analito em estudo, nos volumes de amostragem de 2 e 5 mL nas concentrações descritas na parte experimental.

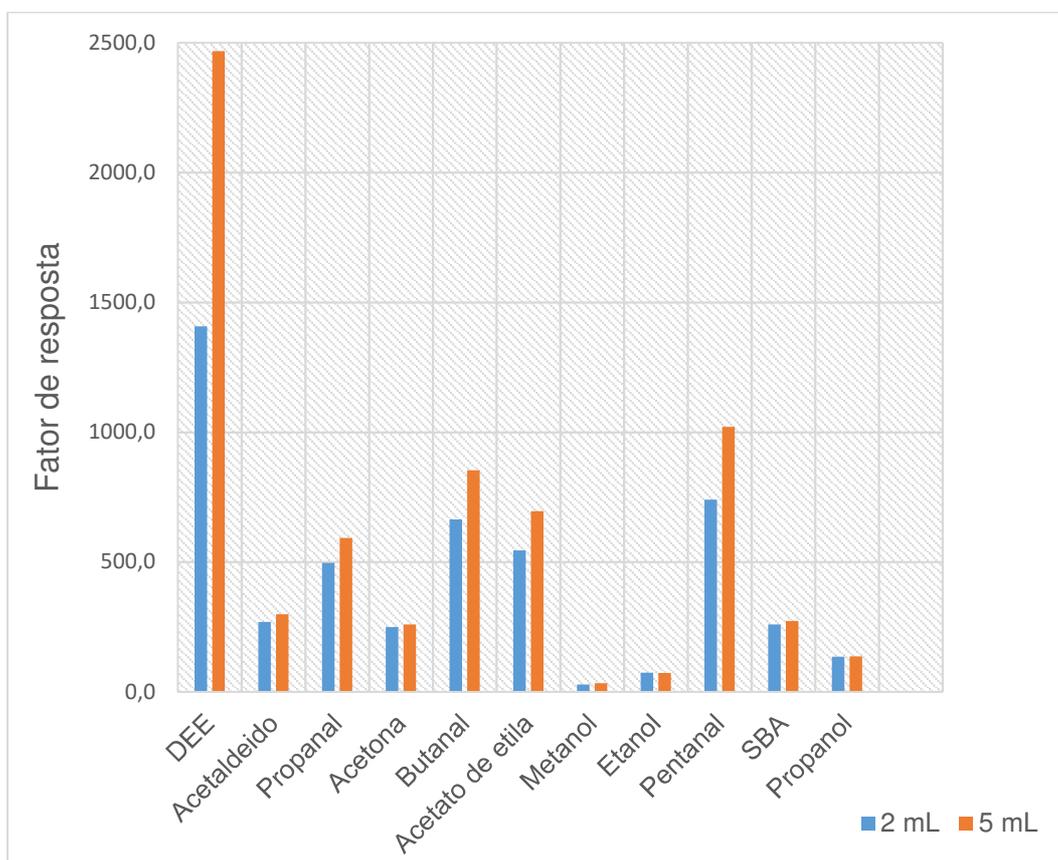


Figura 10 - Fator de resposta dos compostos oxigenados obtidos com volumes de amostragem de 2 e 5 mL.

De modo geral, aumentando o volume de amostra, o fator de resposta aumenta. No entanto, sabe-se que os analitos com alto coeficiente de partição (K), possuem maior afinidade com a fase líquida. Os álcoois metanol, etanol, propanol e 2-butanol (SBA) tem forte interação com a matriz aquosa devido as ligações de hidrogênio. Logo, se observa que o aumento do volume de amostra não aumentou o fator de resposta destes analitos, enquanto que para analitos com baixo coeficiente de partição e que possuem consequentemente menor afinidade com a matriz, o aumento do volume de amostra aumentou o fator de resposta. Tal comportamento pode ser nitidamente observado no composto Éter Dietílico (DEE) que teve o maior ganho de resposta com o volume de 5 mL.¹⁷ Além disso, pode-se atribuir esse aumento do fator

de resposta, devido à pressão de vapor do Éter Dietílico ser muito maior do que dos álcoois, alterando a pressão de vapor do sistema, e conseqüentemente dificultando a vaporização dos álcoois no sistema.

A avaliação do coeficiente de variação relativo (CV%) está apresentada na figura 11, cujo (CV%) foi obtido pela média de dos resultados de triplicatas para os volumes de amostragem testados: 2 e 5 mL.

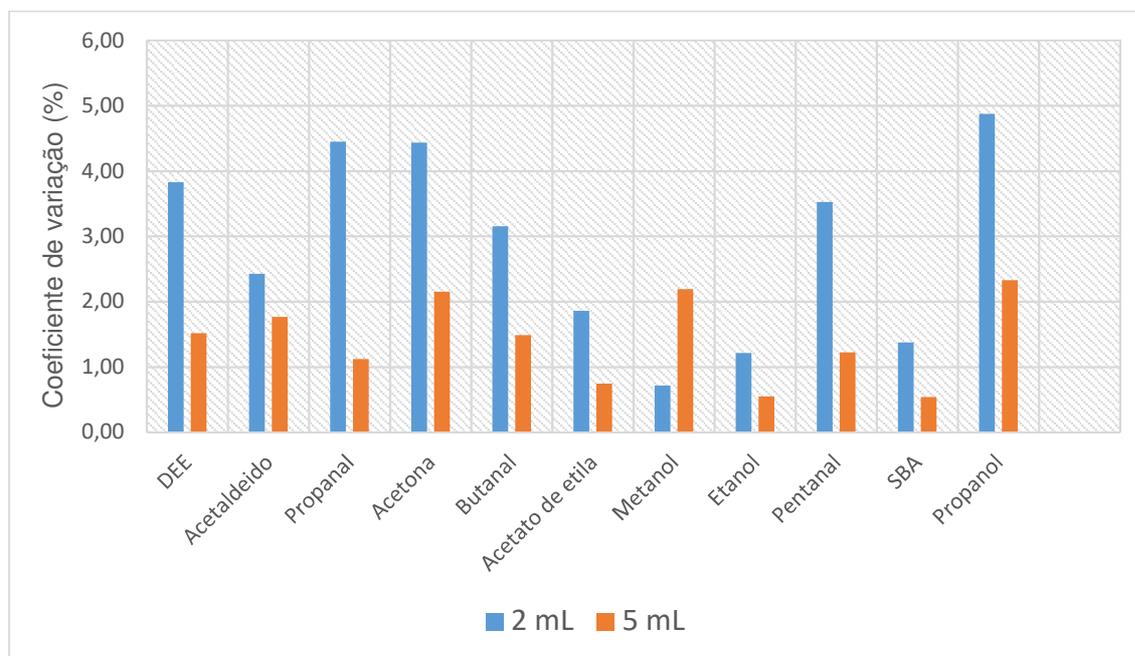


Figura 11 - Valores da média de triplicatas do coeficiente de variação (CV%) para os volumes de amostragem para a injeção por *headspace* de 2 e 5 mL.

Segundo a figura, em termos de precisão, o volume de 5 mL mostrou menor coeficiente de variação para a maioria dos analitos, ficando abaixo de 3% de variação enquanto que a variação para o volume de 2 mL foi menor que 5%.

4.3.2 Efeito da temperatura de equilíbrio

Na figura 12, estão apresentados os fatores de resposta (área/concentração) de cada analito para os testes de temperatura de equilíbrio de 80 e 85°C, enquanto que a figura 13 apresenta o coeficiente de variação (CV%) para cada analito nas duas temperaturas testadas.

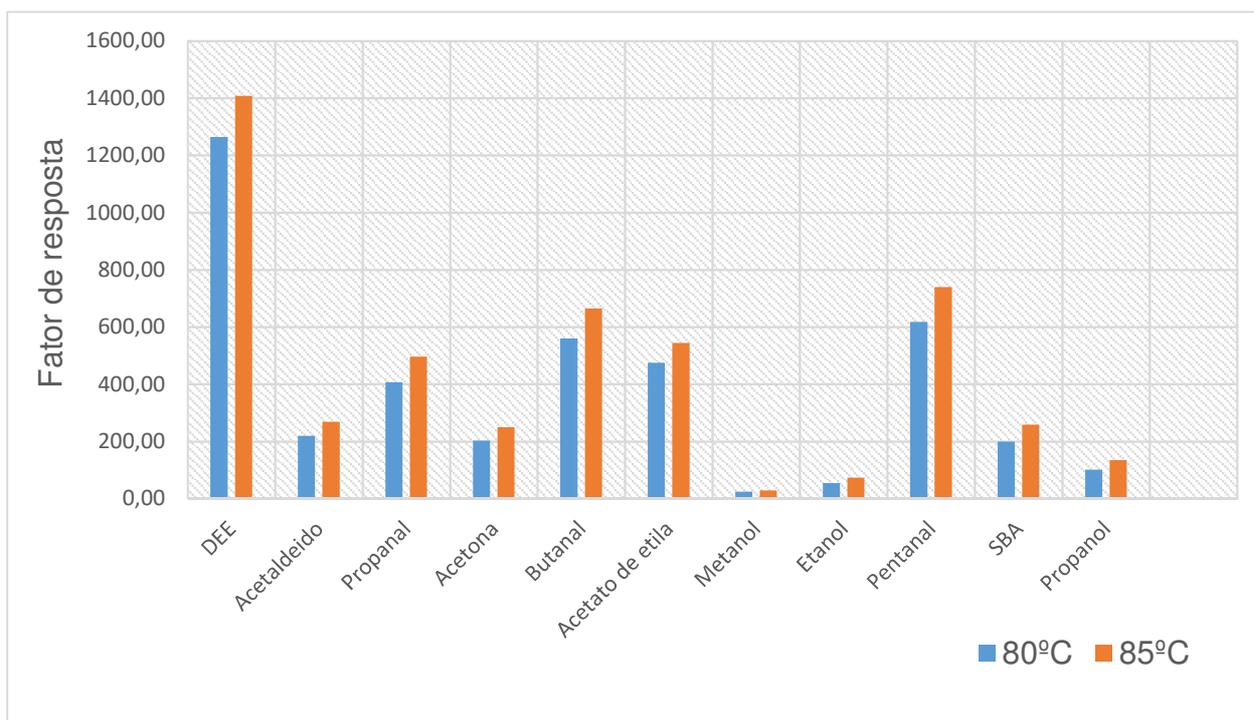


Figura 12 – Fator de resposta (área/concentração) dos compostos oxigenados para as temperaturas de equilíbrio de 80°C e 85°C no *headspace*.

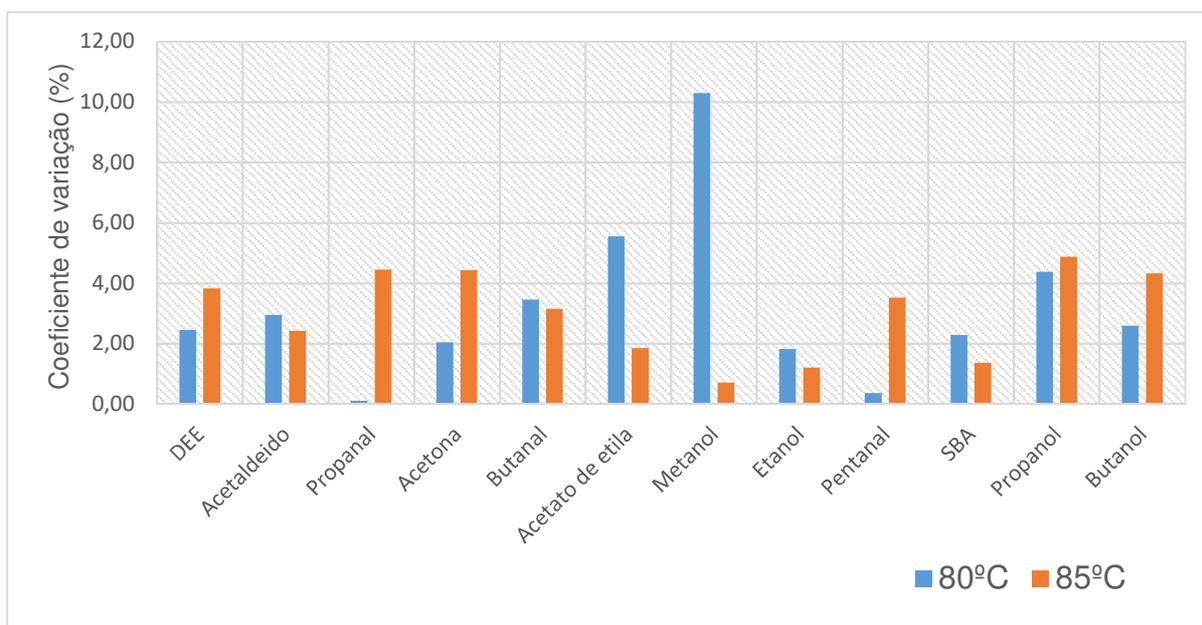


Figura 13 - Coeficiente de variação (CV%) para os fatores de respostas obtidos nos testes de temperaturas de equilíbrio de 80°C e 85°C no *headspace*.

Nas figuras 12 e 13, pode-se observar que a temperatura de 85° C, apresentou o maior fator de resposta para todos os analitos. Esse resultado era esperado, pois a pressão de vapor de uma substância é afetada pela temperatura. Quanto maior a temperatura, maior a pressão de vapor, visto que a energia fornecida facilita a vaporização dos analitos, aumentando suas concentrações na fase gasosa.

Analisando os resultados também se verifica que na temperatura de 80°C os coeficientes de variação foram baixos para alguns analitos, como por exemplo para o propanal, no entanto para o metanol o coeficiente de variação ficou acima de 10% o que prejudicaria a validação da metodologia e, portanto, esta temperatura não foi escolhida. Na temperatura de 85°C todos os coeficientes de variação ficaram abaixo de 5%. A partir dos dados obtidos, a temperatura de 85° foi escolhida como a melhor condição de trabalho pois apresentou o melhor fator de resposta e coeficientes de variação menores.

4.3.3 Efeito da adição de sais

4.3.3.1 Efeito do Na₂SO₄

Na figura 14, é apresentado o fator de resposta (área/concentração) dos analitos com a utilização do Na₂SO₄ adicionado ao meio, observa-se que a utilização deste sal aumentou o fator de resposta se comparado com o fator de resposta sem qualquer adição de sal. Também se verifica que quanto maior a quantidade adicionada melhor resposta é obtida.

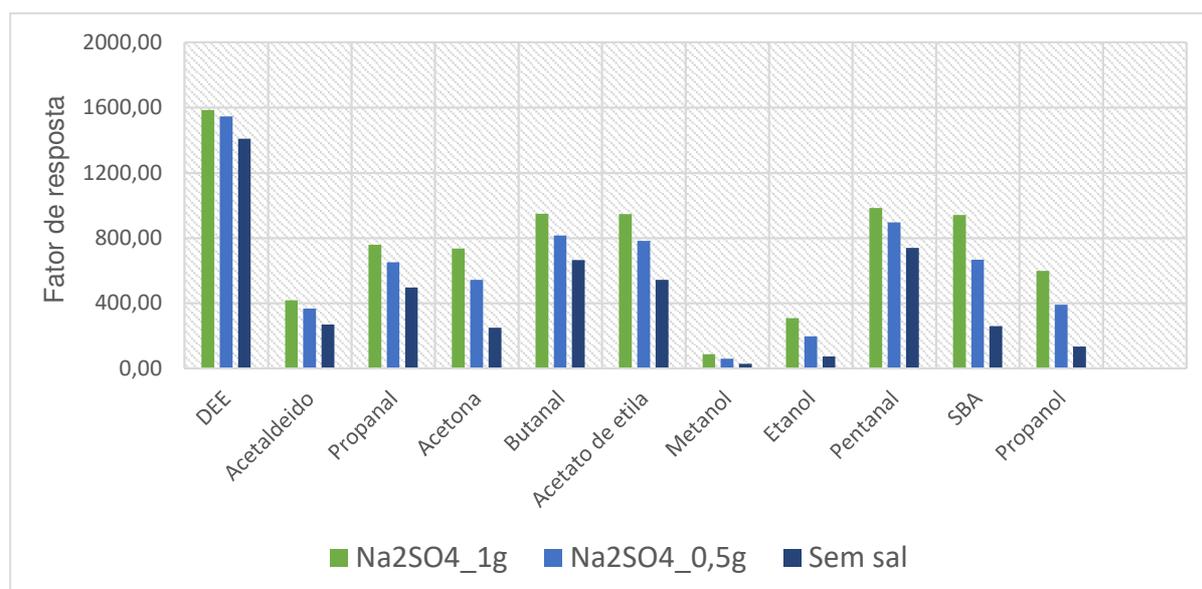


Figura 14 - Fator de resposta (área/concentração) dos analitos em amostra sem e com adição do sal Na₂SO₄ nas quantidades de 1 e 0,5 g

4.3.3.2 Efeito do NaCl

O NaCl pode ser uma alternativa ao Na_2SO_4 , com a vantagem de ser um sal mais barato. Os resultados obtidos e demonstrados na figura 15, permitem dizer que a adição do mesmo produz melhora na sensibilidade do método, visto que ocorre aumento da área em função da adição do mesmo, bem como de sua quantidade.

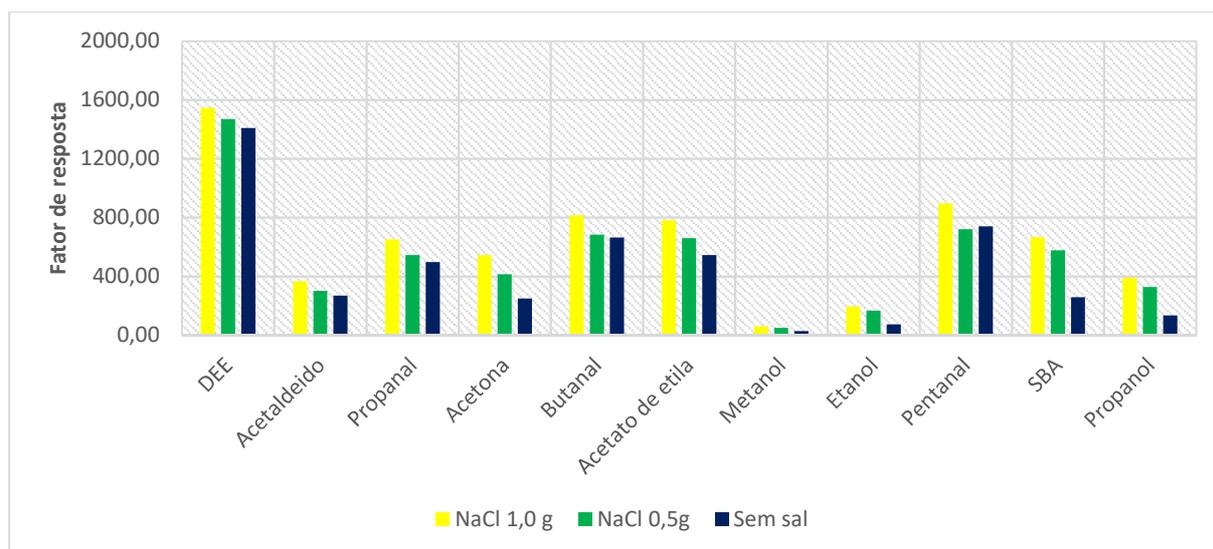


Figura 15 - Fator de resposta dos analitos em amostra sem e com adição do sal NaCl nas quantidades de 1 e 0,5 g

Comparando os sais estudados, o maior fator de resposta observado foi com a utilização do Na_2SO_4 na quantidade de 1,0 g.

O Na_2SO_4 demonstrou maior fator de resposta, no entanto foram avaliados também os CV% para os dois sais. Conforme a Figura 16, é percebido que o menor CV% para a maioria dos compostos testados, é sem adição de qualquer sal. Devido a amostra analisada não requerer baixos limites de detecção e o CV% ser mais alto com o uso dos sais neste caso, optou-se por não utilizar nenhum sal na validação do método.

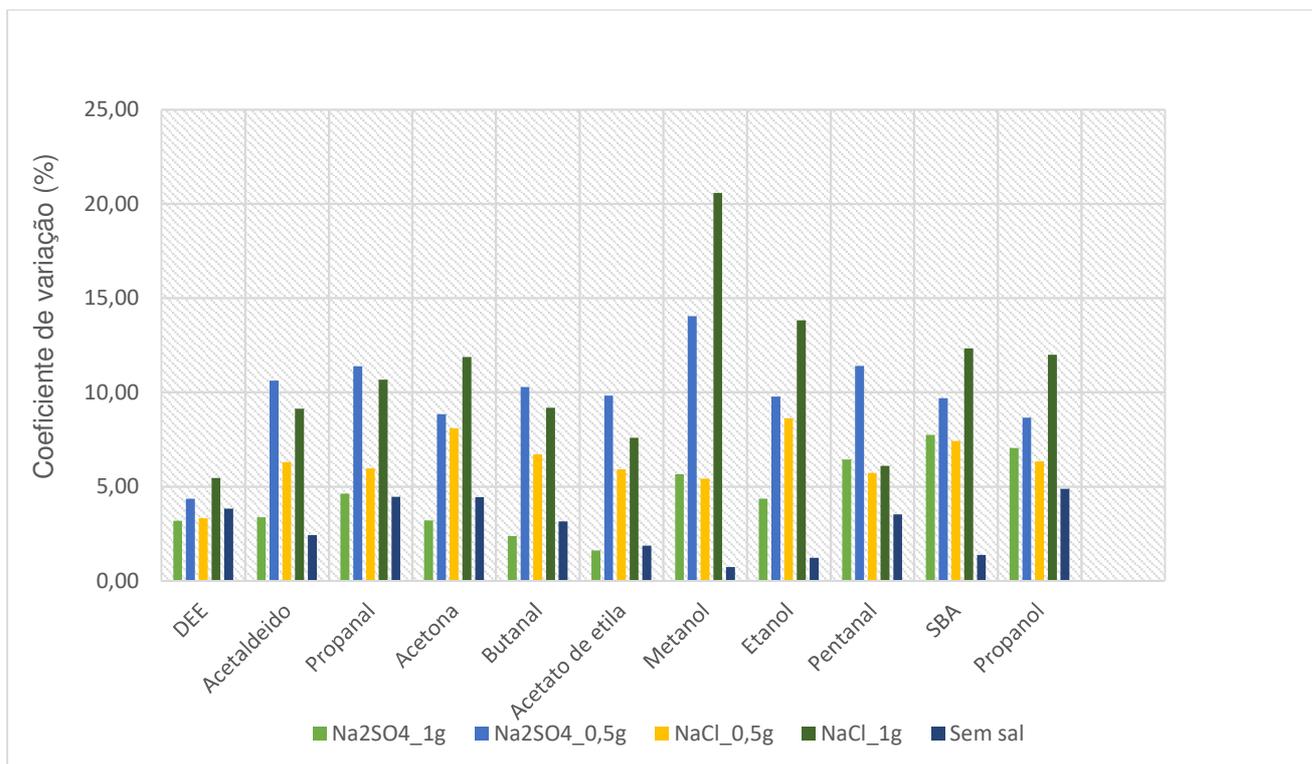


Figura 16 - Valores dos CV% dos testes sem e com a adição dos sais Na₂SO₄ e NaCl nas soluções.

4.4 Parâmetros de desempenho analítico na metodologia HS GC-FID

4.4.1 Linearidade e Faixa de trabalho

Na tabela XII estão apresentadas as equações e coeficiente de determinação de cada analito na curva de calibração realizada com solução em água ultrapura.

Tabela XII - Equações da reta, faixa de trabalho e coeficiente de determinação para os oxigenados (soluções confeccionadas com água ultrapura).

Composto	Equação da reta	Faixa de trabalho (mg L ⁻¹)	R ²
Éter Dietílico	$y = 2974x + 3249$	10 - 80	0,996
Acetaldeído	$y = 303x + 60053$	500 - 5000	0,992
Propanal	$y = 577x + 2438$	10 - 80	0,995
Acetona	$y = 227x + 1449$	10 - 80	0,996
Butanal	$y = 709x + 4681$	10 - 80	0,999
Acetato de etila	$y = 752x + 841$	5 - 40	0,999
Metanol	$y = 31,5x + 27820$	1500 - 12000	0,997
Etanol	$y = 66,6x + 160722$	5000 - 40000	0,993
Pentanal	$y = 862x + 2757$	5 - 40	0,998
2-butanol	$y = 208x + 966$	5 - 40	0,997
Propanol	$y = 114x + 448$	5 - 40	0,998

A linearidade pode ser avaliada a partir do coeficiente de determinação (R²). Segundo a literatura ⁵⁸, o coeficiente correlação (r) deve ser superior a 0,99, e R² >0,98 para que a linearidade seja comprovada.

Nos testes realizados das soluções dos analitos em água ultrapura, todos os coeficientes de determinação ficaram acima de 0,98, comprovando a linearidade na faixa de trabalho detalhada na tabela VII.

A linearidade também foi testada em uma amostra do processo fortificada com os analitos, onde a concentração inicial de cada analito foi determinada pelo método de adição de padrão. Os resultados da equação de reta, a faixa de trabalho e o coeficiente de determinação (R²) para cada analito em soluções com a matriz estão apresentados na tabela XIII.

Tabela XIII - Equações da reta, faixa de trabalho e coeficiente de determinação para os oxigenados em soluções confeccionadas com a matriz.

Composto	Equação da reta	Faixa de trabalho (mg L ⁻¹)	R ²
Éter Dietílico	$y = 2708x + 167781$	60 - 130	0,996
Acetaldeído	$y = 268x + 619501$	2450 - 5500	0,999
Propanal	$y = 570x + 1366$	3 - 70	0,999
Acetona	$y = 209x + 8006$	40-110	0,998
Butanal	$y = 628x + 26553$	40-110	0,996
Acetato de etila	$y = 898x + 9910$	10 - 40	0,999
Metanol	$y = 30,8x + 48792$	1700 - 13000	0,999
Etanol	$y = 60x + 1316082$	21000 - 42000	0,996
Pentanal	$y = 850x + 460$	5 - 40	0,999
2-butanol	$y = 197x + 1166$	5 - 40	0,999
Propanol	$y = 107x + 560$	5 - 40	0,999

Conforme os dados apresentados, todos os coeficientes de determinação estão acima de 0,98 demonstrando que a matriz não interfere na linearidade na faixa estabelecida.

O etanol está em concentração majoritária na amostra, e percebe-se que acima da concentração de 42000 mg L⁻¹, a curva começa a perder linearidade, e isso afeta também a linearidade dos demais oxigenados, pois possui relação direta no equilíbrio matriz *versus* analito no *headspace*. Por isso, a faixa máxima de trabalho é de 4% (m/v) de etanol na amostra, acima desta concentração a amostra deverá ser diluída.

4.4.2 Seletividade

As curvas obtidas e apresentadas nas tabelas XII e XIII fornecem os dados para o cálculo da seletividade. A tabela XIV apresenta a razão dos coeficientes angulares das equações da linearidade para avaliação da seletividade.

Tabela XIV - Comparação dos coeficientes angulares da curva das soluções em água ultrapura e em soluções com a matriz.

Composto	Curva em água (a)	Curva na amostra (b)	Razão (a/b)
Éter Dietílico	$y = 2974x + 3249$	$y = 2708x + 167781$	1,09
Acetaldeído	$y = 303x + 60053$	$y = 268x + 619501$	1,13
Propanal	$y = 577x + 2438$	$y = 570x + 1366$	1,01
Acetona	$y = 227x + 1449$	$y = 209x + 8006$	1,08
Butanal	$y = 709x + 4681$	$y = 628x + 26553$	1,12
Acetato de etila	$y = 752x + 841$	$y = 898x + 9910$	0,84
Metanol	$y = 31,5x + 27820$	$y = 30,8x + 48792$	1,02
Etanol	$y = 67x + 160722$	$y = 60x + 1316082$	1,12
Pentanal	$y = 862x + 2757$	$y = 850x + 460$	1,05
2-butanol	$y = 208x + 966$	$y = 197x + 1166$	1,05
Propanol	$y = 114x + 448$	$y = 107x + 560$	1,06

Para o teste de seletividade por este método, quanto mais próximo de 1 estiver a razão do coeficiente angular, maior a comprovação da seletividade.⁵⁹

Analisando os dados da tabela XIV, verifica-se que o acetato de etila apresenta uma razão que indica influência da matriz. Tal comportamento pode ser atribuído a presença de ácido acético na matriz, o qual pode reagir com o etanol, formando o acetato de etila. Tal reação não ocorre na solução preparada com água ultrapura, pois nesse caso não há a presença do ácido acético, o que certamente é responsável pelas respostas diferentes.

4.4.3 Precisão

A precisão foi avaliada a nível de repetitividade e precisão intermediária. O coeficiente de variação relativo foi utilizado para avaliação da repetitividade e precisão intermediária. As tabelas XV e XVI apresentam os resultados obtidos.

Tabela XV - Coeficiente de variação para avaliação da repetitividade.

Composto	Concentração mg kg ⁻¹	CV (%)
Éter Dietílico	53	6,37
Acetaldeído	1424	2,47
Propanal	49	2,63
Acetona	49	3,08
Butanal	50	2,12
Acetato de etila	24	2,02
Metanol	1407	2,56
Etanol	23415	2,50
Pentanal	27	3,64
2-butanol	26	2,80
Propanol	27	2,81

CV= coeficiente de variação

Segundo recomendação da AOAC, para o etanol, o CV% aceito para a repetitividade é de 2,7%. Para o acetaldeído e o metanol o CV% aceito é 3,7% e para os demais analitos de menor concentração o CV% é de 7,3%. Dessa forma, todos os compostos atenderam ao critério de repetitividade segundo recomendação da AOAC.

Tabela XVI - Coeficiente de variação para avaliação da precisão intermediária.

Composto	Concentração mg kg ⁻¹	CV (%)
Éter Dietílico	53	7,29
Acetaldeído	1424	1,77
Propanal	49	2,83
Acetona	49	1,97
Butanal	50	2,77
Acetato de etila	24	4,19
Metanol	1407	1,74
Etanol	23415	1,73
Pentanal	27	3,76
2-butanol	26	2,16
Propanol	27	3,68

CV= coeficiente de variação

Da mesma forma, a precisão intermediária foi avaliada utilizando os mesmos critérios, todos os analitos atenderam aos valores recomendados pela AOAC.

4.4.4 Exatidão

A exatidão foi calculada a partir da quantidade recuperada de uma amostra fortificada com quantidades conhecidas de padrão. Dependendo da concentração do analito, o intervalo da recuperação aceito varia, podendo ser maior ou menor.

Na tabela XVII, está apresentada a concentração inicial do analito na amostra, concentração adicionada, coeficiente de variação entre as análises (triplicata) e a recuperação de cada nível adicionado (%R).

Tabela XVII – Valores da exatidão do método por meio da recuperação em três níveis de concentração.

Composto	Concentração inicial (mg kg ⁻¹)	Concentração adicionada (mg kg ⁻¹)	CV %	R %
Éter Dietílico	65	22	5,7	102
		40	0,7	101
		62	0,4	102
Acetaldeído	2312	1355	0,7	101
		2651	3,9	100
		2971	3,3	100
Propanal	2	22	1,3	102
		40	2,2	100
		62	5,2	100
Acetona	38	22	1,2	98
		40	0,8	99
		62	3,9	98
Butanal	42	22	1,2	100
		40	2,1	103
		62	5,2	102

Acetato de etila	11	11	0,6	102
		21	4,7	99
		32	0,8	100
Metanol	1584	4196	1,2	99
		7881	3,9	99
		11096	4,0	100
Etanol	21895	5405	1,6	100
		10227	0,5	99
		19553	4,1	101
Pentanal	<LD	13	2,5	92
		23	0,2	98
		36	5,1	101
2-butanol	6	11	1,6	98
		21	4,4	99
		32	3,7	98
Propanol	5	12	3,4	97
		23	7,3	101
		35	4,9	100

Para os compostos Éter Dietílico, propanal, acetona, butanal, acetato de etila, pentanal, 2-butanol e propanol o intervalo de recuperação aceito é de 90 a 107%. Todos os compostos ficaram dentro deste intervalo, sendo comprovada a exatidão do método. Para o metanol e o acetaldeído a recuperação deve ficar entre 95 a 105%. Para todos os níveis de fortificação em ambos os compostos a recuperação foi satisfatória. Para o etanol, a recuperação esperada é de 97 a 103%. Para todos os níveis testados a resultado ficou dentro do esperado, comprovando a exatidão do método. ⁵²

4.4.5 Limite de detecção e quantificação

Os limites de detecção e quantificação foram determinados e apresentados na tabela XVIII. Verifica-se que os mesmos atendem a necessidade da metodologia, visto que todos os limites estão dentro da faixa de trabalho para as amostras do processo.

Tabela XVIII - Limites de detecção e quantificação dos oxigenados na metodologia
HS GC-FID

Composto	LD (mg kg ⁻¹)	LQ (mg kg ⁻¹)
Éter Dietílico	0,1	0,3
Acetaldeído	1,1	3,6
Propanal	0,6	2,2
Acetona	0,6	2,1
Butanal	0,4	1,2
Acetato de etila	0,4	1,4
Metanol	5,4	17,8
Etanol	2,0	6,7
Pentanal	0,2	0,7
2-butanol	1,0	3,5
Propanol	1,6	5,0

4.5 Desenvolvimento da metodologia HPLC-DAD

O ácido acético é um dos subprodutos formados na produção de eteno via desidratação de etanol. Comparado aos ácidos inorgânicos, os ácidos orgânicos são considerados ácidos fracos, mas possuem grande potencial de corrosão nas condições de alta temperatura e pressão do processo.⁶⁰

A metodologia GC-FID envolve um grande preparo da amostra para determinação do ácido acético, isso torna o processo mais laborioso, dificultando a aplicação do método na rotina do laboratório. Por isso, buscou-se uma metodologia com menor preparo de amostra, somado ao fato que outros ácidos orgânicos presentes também pudessem ser quantificados mesmo em baixas concentrações. O desenvolvimento desta técnica contempla o ácido fórmico, ácido acético, ácido propanoico, ácido butanoico e ácido pentanoico.²⁷

4.5.1 Avaliação dos cromatogramas

Nas condições analíticas descritas em 3.3.1, os ácidos orgânicos avaliados devem eluir em ordem crescente de pK_a , visto que a fase estacionária da coluna de troca iônica H^+ é constituída de uma resina de estireno divinilbenzeno em forma de gel. O mecanismo de separação da coluna utilizada HPX87H é de troca iônica. Porém, uma vez que a fase móvel utilizada é bastante ácida e aliada ao pH dos sítios $SO_3^-H^+$ (trocadores de cátions) da coluna, produzem um baixíssimo pH dentro da fase estacionária. Esse pH desloca os analitos para a forma não ionizada e fazem com que os mesmos eluam em ordem crescente de pK_a . Na tabela XIX estão apresentados os tempos de retenção dos ácidos determinados que confirmam a informação acima.

Tabela XIX - Tempo de retenção dos ácidos orgânicos em estudo

Tempo de retenção (min)	Composto
14,2	Ácido fórmico (1)
15,4	Ácido acético (2)
18,1	Ácido propanoico (3)
22,1	Ácido butanoico (4)
31,5	Ácido pentanoico (5)

A coluna possui 8% de ligações cruzadas, e quanto menor esse percentual, maior a interação com compostos de maior peso molar, o que torna a estrutura da resina mais aberta. Tal comportamento foi verificado e dessa forma a eluição dos ácidos em estudo foi de: (1) ácido fórmico, (2) ácido acético, (3) ácido propanoico, (4) ácido butanoico e (5) ácido pentanoico⁶¹, como pode ser visto na Figura 17, a qual apresenta o cromatograma da análise de uma mistura padrão contendo os cinco ácidos avaliados.

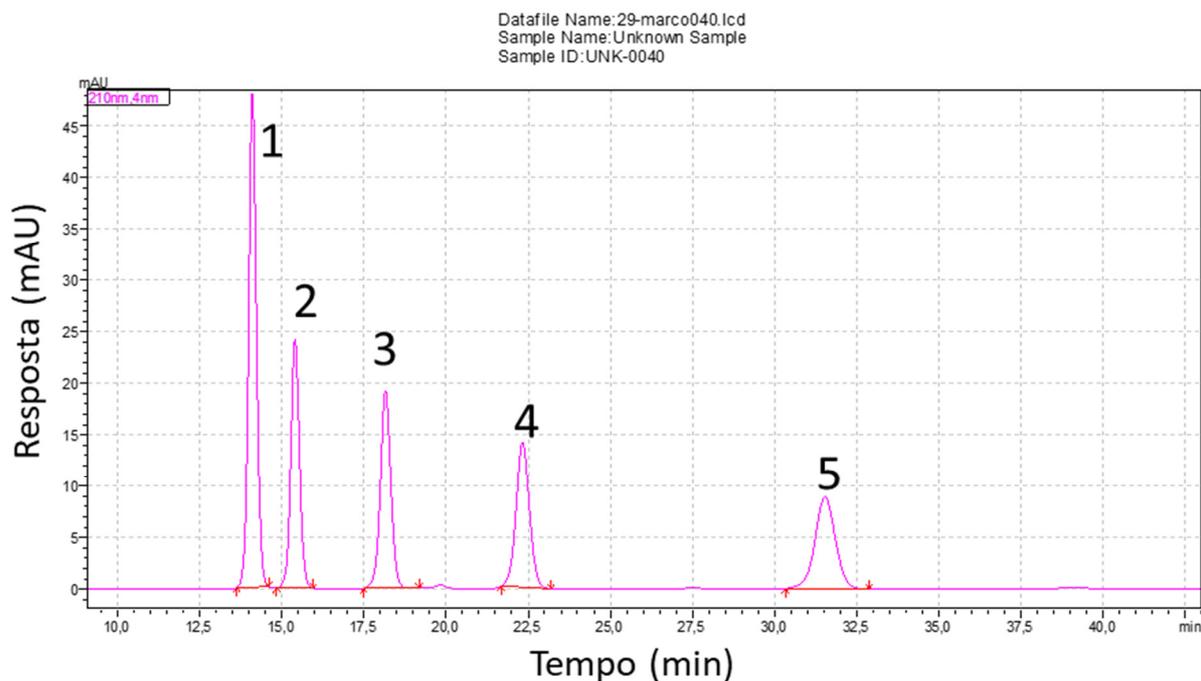


Figura 17 - Cromatograma da mistura padrão contendo os ácidos orgânicos: (1) ácido fórmico, (2) ácido acético, (3) ácido propanoico, (4) ácido butanoico, (5) ácido pentanoico

Como pode-se observar, as condições analíticas aplicadas apresentaram um cromatograma livre de interferentes e com boa resolução, o que demonstra a eficiência da metodologia proposta.

A figura 18 apresenta o cromatograma de uma amostra do processo onde existe evidência de corrosão nas tubulações. A análise realizada nessa amostra confirma a presença dos ácidos acético, propanoico e butanoico. A concentração máxima de ácido acético determinada foi de 600 mg L⁻¹. A concentração é significativa e justifica a corrosão no sistema.

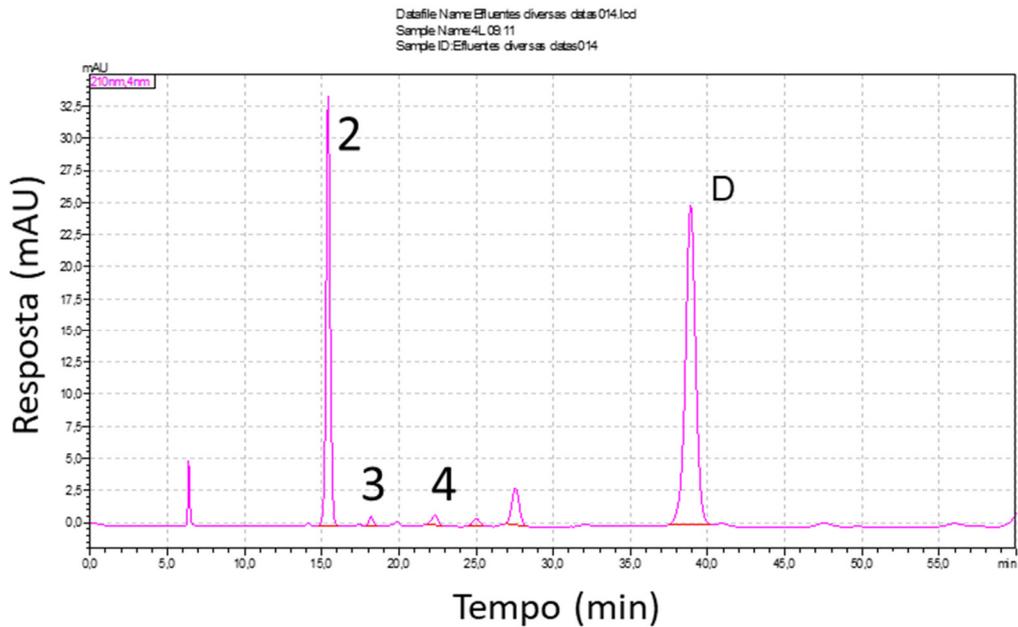


Figura 18 - Cromatograma da amostra do efluente do reator, contendo os ácidos orgânicos: (2) ácido acético, (3) ácido propanoico, (4) ácido butanoico, (D) desconhecido

A partir das análises quantitativas realizadas conclui-se que os compostos majoritários da corrente são o etanol, o acetaldeído e o ácido acético. A predominância destes compostos na amostra também é confirmada na análise por cromatografia a líquido com detector de índice de refração (RID), conforme figura 19.

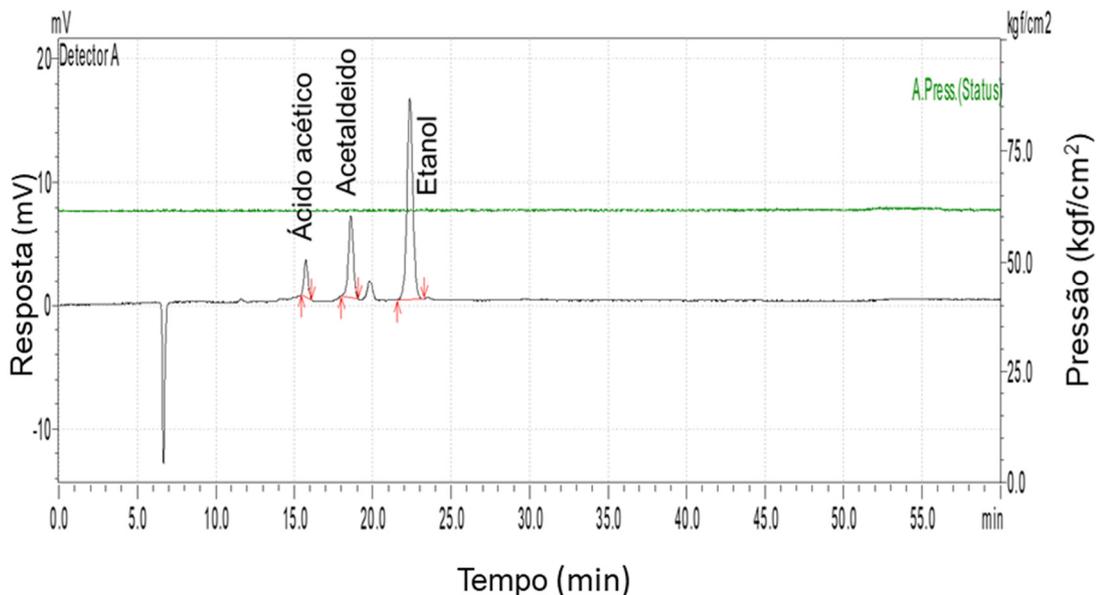


Figura 19 - Cromatograma da amostra do reator no HPLC-RID

Também foi identificado um composto inicialmente desconhecido, correspondente ao tempo de retenção de 39 minutos, apresentado na figura 18. Esse composto esteve presente em todas as amostragens realizadas e analisadas por HPLC-DAD, enquanto que, no detector RID não apresentou sinal. O RID é um detector universal, porém com baixa sensibilidade, a partir desta informação pode-se admitir que o composto desconhecido está em baixa concentração, apesar da sua alta resposta no detector UV.

A primeira hipótese foi de que esse composto pudesse ser o ácido hexanoico. A partir disso, o ácido hexanoico foi adicionado a uma solução padrão para verificação do seu tempo de retenção. Porém o tempo de retenção não coincidiu com o composto desconhecido, conforme demonstrado no cromatograma da figura 20.

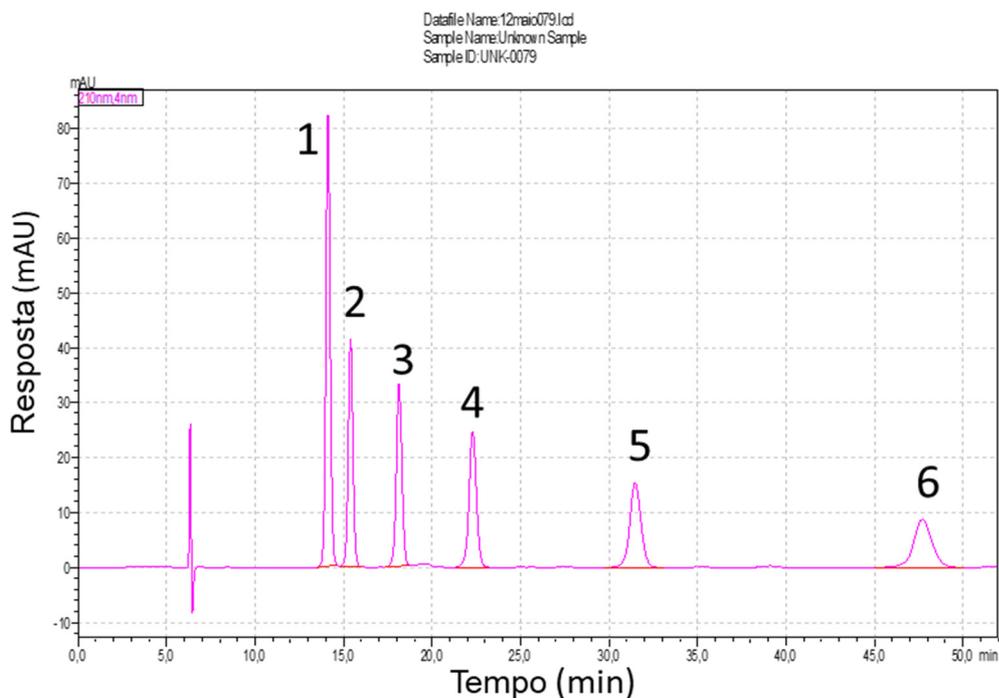


Figura 20 - Cromatograma de uma mistura padrão contendo os ácidos orgânicos: (1) ácido fórmico, (2) ácido acético, (3) ácido propanoico, (4) ácido butanoico, (5) ácido pentanoico, (6) ácido hexanoico

O tempo de retenção do composto desconhecido é de 39 minutos enquanto que do ácido hexanoico é 48 minutos, com isso podemos concluir que o composto desconhecido não se trata do ácido hexanoico.

Buscou-se então outras técnicas para identificação do composto. Foi realizada análise por cromatografia a líquido de alta eficiência e detector de massas, utilizando mesma coluna, fase móvel e condições analíticas. A análise não se mostrou adequada, pois o cromatograma apresentou muitos interferentes e devido à ausência de uma biblioteca para este tipo de análise não foi possível identificar o composto.

Outro teste realizado, foi a análise por UPLC-TOF MS. Para possibilitar a análise neste equipamento, o composto precisou ser isolado. A separação foi realizada no sistema HPLC e o analito coletado na saída da coluna. A análise desta fração foi realizada por infusão direta, sendo testada a ionização positiva e negativa. Esta análise, porém, também foi inconclusiva, pois a partir dos fragmentos gerados não foi possível chegar a identificação do composto.

Desta forma, se buscou na literatura mais informações que pudessem auxiliar na identificação do composto baseado na característica da amostra. Os compostos majoritários na amostra são o etanol, acetaldeído e ácido acético.

É conhecido que aldeídos em presença de excesso de álcoois, reagem formando hemiacetais.⁶² Logo, se adicionarmos o etanol presente na amostra ao acetaldeído, também presente na amostra, forma-se um hemiacetal. Ainda, a adição de mais uma molécula de etanol, em meio ácido, forma o composto 1,1-dietoxi-etano, conforme reação demonstrada na figura 21.⁶³

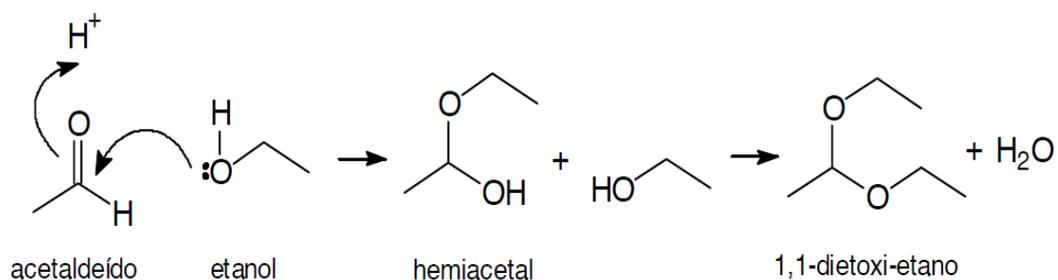


Figura 21 - Reação de obtenção do 1,1-dietoxi-etano

O acetaldeído e o etanol são os oxigenados majoritários na corrente e o H₂SO₄ presente na fase móvel exerce atividade catalítica para a adição do segundo etanol no hemiacetal, pois o grupo hidroxila é protonado e será abandonado em forma de água.⁶⁴ Tais condições explicam facilmente a formação do 1,1-dietoxi-etano e ainda explica porque este composto não aparece na análise por cromatografia gasosa.

Para a investigação do tempo de retenção do composto, uma solução de 1,1-dietoxi-etano em água foi preparada e analisada nas mesmas condições de análise em que a amostra foi analisada. O tempo de retenção para o 1,1-dietoxi-etano foi de 39 minutos, confirmando o mesmo tempo do composto na amostra do reator. A figura 22 apresenta o cromatograma do teste realizado.

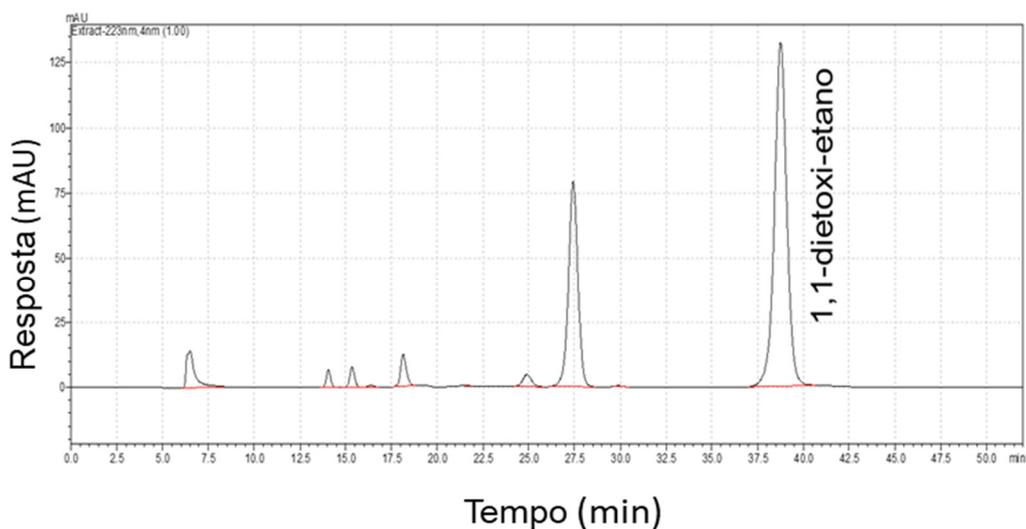


Figura 22 - Cromatograma da amostra padrão do 1,1-dietoxi-etano

Também foi comparado o espectro de absorção do 1,1-dietoxi-etano com o espectro de absorção do composto desconhecido. Ambos apresentaram absorção máxima em 223nm, conforme está apresentado na figura 23.

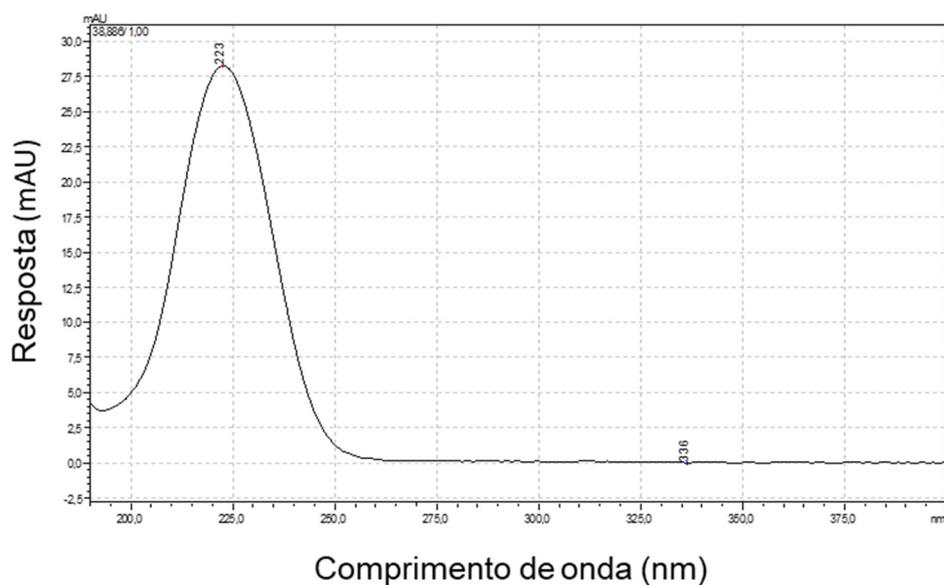


Figura 23 - Espectro de absorção da solução de 1,1-dietoxi-etano em água

O tempo de retenção aliado ao espectro de absorção molecular confirmaram o pico como sendo o 1,1-dietoxi-etano, visto que o ambos os espectros (padrão e pico na amostra) apresentaram mesmo tempo de retenção, perfil e comprimento de máxima absorção de 223 nm.

4.6 Parâmetros de desempenho analítico na metodologia HPLC-DAD

4.6.1 Seletividade

A seletividade foi avaliada a partir da pureza espectral obtida pelo detector de arranjo de diodos, avaliando o índice da pureza do pico retirado de cromatogramas de amostras acrescidas dos padrões dos ácidos. Os valores dos índices são apresentados na tabela XX.

Tabela XX - Índice de pureza dos compostos ácidos orgânicos determinados pelo detector DAD

Composto	Índice de pureza
Ácido fórmico (1)	1,000000
Ácido acético (2)	1,000000
Ácido propanoico (3)	0,997759
Ácido butanoico (4)	0,999998
Ácido pentanoico (5)	0,999993

A partir dos índices avaliados a seletividade do método foi comprovada, pois todos os índices estão acima de 0,99. A figura 24 exemplifica o espectro de absorção máxima e a pureza espectral do ácido acético, obtida de uma amostra fortificada com os analitos de interesse.

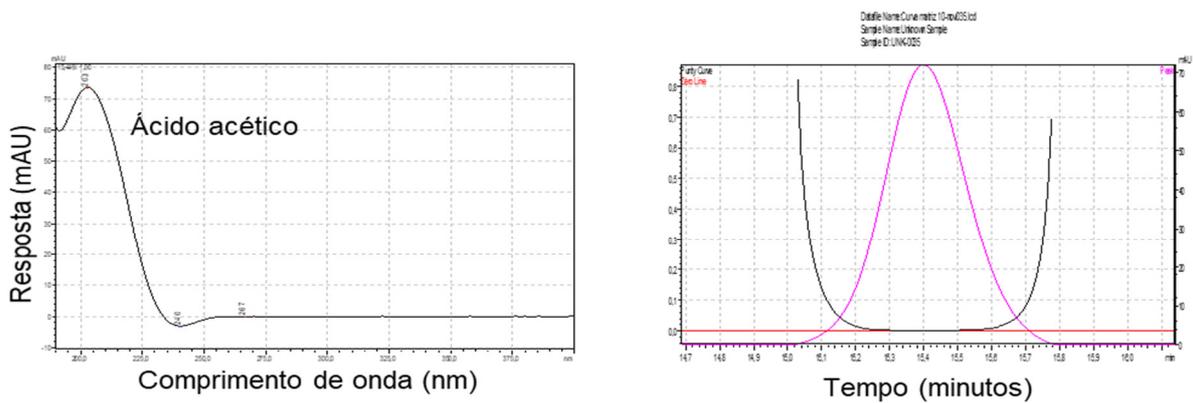


Figura 24 - Espectro de absorção do ácido acético e pureza espectral do analito na amostra

4.6.2 Linearidade

As tabelas XXI, XXII e XXIII apresentam as equações das retas e seus respectivos coeficientes de determinação (R^2) para as três faixas avaliadas (baixa, média e alta).

Tabela XXI - Curvas de calibração para determinação dos ácidos orgânicos em baixa concentração

Composto	Curva analítica	R^2
Ácido fórmico	$y = 1995,5x + 283,4$	0,995
Ácido acético	$y = 1073,1x + 208,29$	0,999
Ácido propanoico	$y = 1000,5x + 180,54$	0,998
Ácido butanoico	$y = 1009,2x - 258,62$	0,999
Ácido pentanoico	$y = 989,66x - 443,88$	0,997

Tabela XXII - Curvas de calibração para determinação dos ácidos orgânicos em média concentração

Composto	Curva analítica	R^2
Ácido fórmico	$y = 2016,5x - 391,78$	0,999
Ácido acético	$y = 1108,5x - 282,16$	0,999
Ácido propanoico	$y = 1057,3x - 331,92$	0,999
Ácido butanoico	$y = 1032,7x - 680,2$	0,999
Ácido pentanoico	$y = 954,65x + 653,07$	0,999

Tabela XXIII - Curvas de calibração para determinação dos ácidos orgânicos em alta concentração

Composto	Curva analítica	R ²
Ácido fórmico	$y = 1995,7x + 5240,2$	0,999
Ácido acético	$y = 1103,9x + 1051,7$	0,999
Ácido propanoico	$y = 1067,6x - 1249,5$	0,999
Ácido butanoico	$y = 1020,3x - 1246,2$	0,998
Ácido pentanoico	$y = 969,28x - 2722,9$	0,999

Conforme já mencionado na metodologia anterior, a linearidade pode ser avaliada a partir do coeficiente de determinação (R²). Segundo a literatura, o coeficiente de correlação (r) deve ser superior a 0,99 e logo R² deve ser >0,98 para que se comprove a linearidade. Em todas as faixas de concentração avaliadas a linearidade foi comprovada. ⁵⁸

4.6.3 Precisão

A precisão foi avaliada em nível de repetitividade e precisão intermediária.

A repetitividade foi avaliada em diferentes faixas de concentração. Na tabela XXIV são apresentados os resultados do CV% para a repetitividade.

Tabela XXIV - Repetitividade para diferentes níveis de concentração dos ácidos

	CV(%) repetitividade			
	8 mg L ⁻¹	15 mg L ⁻¹	100 mg L ⁻¹	700 mg L ⁻¹
Ácido fórmico	1,7	0,9	0,3	0,1
Ácido acético	2,2	3,6	0,6	0,1
Ácido propanoico	3,5	4,0	0,6	0,1
Ácido butanoico	4,5	3,5	1,7	0,2
Ácido pentanoico	5,1	4,0	0,9	0,7

A precisão intermediária foi avaliada e o CV% é apresentado na tabela XXV.

Tabela XXV – CV% da precisão intermediária em diferentes níveis de concentração

	CV (%) Precisão intermediária					
	8 mg L ⁻¹	12 mg L ⁻¹	60 mg L ⁻¹	90 mg L ⁻¹	400 mg L ⁻¹	700 mg L ⁻¹
Ácido fórmico	1,5	3,1	0,7	0,6	0,2	0,4
Ácido acético	5,1	4,2	1,4	0,9	0,4	0,5
Ácido propanoico	7,2	3,7	0,9	0,5	0,7	0,8
Ácido butanoico	6,5	2,7	3,4	2,3	1,7	1,3
Ácido pentanoico	6,2	5,0	1,4	2,3	0,8	0,8

Os critérios para avaliação de precisão (repetitividade e precisão intermediária) variam de acordo com o nível de concentração, para concentrações de 10 mg L⁻¹ o CV% aceito é de 7,3 e para 100 mg L⁻¹ o CV% sugerido é 5,3. Em todos os níveis de concentração o CV% ficou abaixo do limite recomendado indicando que o método atende aos critérios de repetitividade e precisão intermediária para todos os compostos. Observa-se ainda que com o aumento da concentração há um decréscimo do coeficiente de variação.

4.6.4 Exatidão

Na tabela XXVI são apresentados os resultados das recuperações obtidas para a avaliação da exatidão. Os resultados são obtidos da média de triplicata.

Tabela XXVI - Avaliação da recuperação (%) em diferentes níveis de concentração

Composto	Concentração inicial (mg L ⁻¹)	Concentração adicionada (mg L ⁻¹)	CV %	R %
Ácido fórmico	<LD	80	0,1	98
		200	0,1	98
		400	0,1	97
Ácido acético	358	80	0,1	107
		200	0,1	103
		400	0,1	100
Ácido propanoico	6	80	0,5	98
		200	0,1	100
		400	0,1	99

Ácido butanoico	8	80	1,5	107
		200	0,8	105
		400	0,3	102
Ácido pentanoico	11	80	1,9	91
		200	0,6	97
		400	0,1	95

Os critérios aceitos pela AOAC para estes níveis de concentrações é de 90 a 107% de recuperação. Analisando os dados da tabela pode-se inserir que o método é exato.

4.6.5 Limite de detecção e quantificação

Na tabela XXVII, são apresentados os limites de detecção e os limites de quantificação dos analitos em estudo.

Tabela XXVII - Limites de detecção e quantificação dos ácidos orgânicos

	LD (mg L ⁻¹)	LQ (mg L ⁻¹)
Ácido fórmico	0,5	1,6
Ácido acético	0,8	2,6
Ácido propanoico	1,0	3,5
Ácido butanoico	1,1	3,8
Ácido pentanoico	2,1	5,9

5 CONCLUSÕES

Para a determinação quali e quantitativa dos componentes da amostra proveniente do último estágio da reação do processo de obtenção de eteno a partir de etanol, foram desenvolvidas duas metodologias utilizando métodos cromatográficos, uma vez que as características, propriedades e concentrações dos mesmos não permitiam a determinação de todos por uma só metodologia. Além de determinações quantitativas precisas, as metodologias desenvolvidas também objetivaram a simplicidade na preparação da amostra, com o intuito de haver a menor contaminação e perda de analitos, bem como o menor tempo de preparação da amostra. Dessa forma, cromatografia a gás com detector de ionização em chama e amostragem *headspace* foi aplicada para a determinação dos compostos éter dietílico, acetaldeído, propanal, acetona, butanal, acetato de etila, metanol, etanol, pentanal, 2-butanol e propanol, e cromatografia a líquido de alta eficiência com detector de arranjos de diodos para os compostos ácidos fórmico, acético, propanoico, butanoico, pentanoico e 1,1-dietoxi-etano.

A otimização da amostragem por *headspace* mostrou que as melhores condições foram de 5 mL para o volume de amostra e 85°C para temperatura de equilíbrio em tempo de 20 minutos. Também foi verificado que a utilização de sais aumentou o fator de resposta no *headspace*, sendo o sal Na₂SO₄ mais eficiente do que o NaCl. No entanto, devido as concentrações dos oxigenados serem elevadas, optou-se por não utilizar tais sais na validação da metodologia, o que decresce os custos na análise.

A metodologia HS GC-FID atendeu a todas as figuras de mérito da validação. Comprovou ser linear para a faixa de trabalho requerida e apresentou $R^2 > 0,99$ para todos analitos. Mostrou-se preciso, pois apresentou CV% dentro dos critérios da AOAC para a repetitividade e precisão intermediária. O método também se mostrou exato com percentual de recuperação de acordo com os critérios estabelecidos pela AOAC. Os limites de detecção de quantificação atenderam a necessidade das amostras do processo.

A metodologia desenvolvida para o HPLC-DAD se mostrou linear para todas as faixas de trabalho avaliada, com $R^2 > 0,99$ para todos analitos. Também comprovou a seletividade pelo índice de pureza espectral, onde todos os analitos apresentaram valores acima de 0,99. O método foi preciso, visto que apresentou repetitividade e

precisão intermediária dentro dos critérios recomendados pela AOAC. Também foi exato, pois atendeu aos percentuais de recuperação em todas as faixas para os ácidos orgânicos. Os limites de detecção e quantificação são adequados a aplicação pretendida.

A análise da amostra pela metodologia HPLC-DAD confirmou a presença de ácido acético, com concentração máxima de 600 mg L^{-1} , quantidade significativa para causar corrosão nas tubulações, associada a altas temperaturas do processo.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Goldenberg J, Coelho ST, Lucon O, Nastari PM. Ethanol learning curve — the Brazilian experience. *Biomass and Bioenergy*. **2004**; 26, 301.
2. Jewur SS. Conversão catalítica do etanol. Vol. 7, *Química Nova*. **1984**. 67.
3. Fan D, Dai DJ, Wu HS. Ethylene formation by catalytic dehydration of ethanol with industrial considerations. *Materials*. **2013**, 6, 101.
4. Zhang M, Yu Y. Dehydration of ethanol to ethylene. *Ind Eng Chem Res*. **2013**; 52 (28), 9505.
5. Maia JGSS. Dissertação de Mestrado: Modelagem e Simulação do processo de desidratação do etanol. **2015**; 148.
6. Morschbacker A. Bio-Ethanol Based Ethylene. *J Macromol Sci*. **2009**;49, 79.
7. Standard Test Method for Volatile Alcohols in Water by Direct Aqueous-Injection Gas Chromatography - ASTM D3695/95. **2013**.
8. Phung TK, Proietti Hernandez L, Lagazzo A, Busca G. Dehydration of ethanol over zeolites, silica alumina and alumina: Lewis acidity, Bronsted acidity and confinement effects. *Appl Catal A Gen*. **2015**, 493, 77.
9. Ezinkwo GO, Tretjakov VF, Talyshinky RM, Ilolov AM, Mutombo TA. Creation of a continuous process for bio-ethanol to butadiene conversion via the use of a process initiator. *Catal Commun* **2014**; 43, 207.
10. Royal Society of Chemistry. Chemspider search and share chemistry [Internet]. [cited **2018** May 18]. Available from: <http://www.chemspider.com/>
11. (NCBI) NC for BI. PubChem Structure Search [Internet]. [cited **2018** May 18]. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/search/search.cgi>
12. America USS of C on behalf of the US of. Webbook Nist - National Institute of Standards and Technology [Internet]. [cited **2018** May 19]. Available from: <https://webbook.nist.gov/chemistry/>
13. Yarita T, Nakajima R, Otsuka S, Ihara T, Takatsu A, Shibukawa M. Determination of ethanol in alcoholic beverages by high-performance liquid chromatography – flame ionization detection using pure water as mobile phase. *J Chromatogr A*. **2002**, 976, 387.

14. Bursova M, Hlozek T, Cabala R. Simultaneous Determination of Methanol , Ethanol and Formic Acid in Serum and Urine by *Headspace* GC-FID. *J Anal Toxicol.* **2015**;39, 741.
15. Zhang C, Lin N, Chai X, Barnes DG. A rapid method for simultaneously determining ethanol and methanol content in wines by full evaporation headspace gas chromatography. *Food Chem.* **2015**, 183, 169.
16. Rego TCED. Avaliação de um método de cromatografia em fase gasosa - Headspace e estudo da estabilidade do etanol no sangue. **2008**.
17. Monteiro C, Franco JM, Proença P, Castanera A, Claro A, Vieira DN, et al. Qualitative and quantitative analysis of a group of volatile organic compounds in biological samples by HS-GC / FID : application in practical cases. *Forensic Sci Int.* **2014**, 243, 137.
18. Yang M-H, Choong Y-M. A rapid gas chromatographic method for direct determination of short-chain (C2–C12) volatile organic acids in foods. *Food Chem.* **2001**, 75, 101.
19. Wittmann G, Van Langenhove H, Dewulf J. Determination of acetic acid in aqueous samples, by water-phase derivatisation, solid-phase microextraction and gas chromatography. *J Chromatogr A* , **2000**; 874 (2), 225.
20. Kerem Z, Bravdo BA, Shoseyov O, Tugendhaft Y. Rapid liquid chromatography-ultraviolet determination of organic acids and phenolic compounds in red wine and must. *J Chromatogr A.* **2004**, 1052, 211.
21. Rodrigues Cerqueira MB, Dias AN, Caldas SS, Santana FB, Montes D'Oca MG, Primel EG. Validação De método para determinação de ácidos orgânicos voláteis em efluentes De reatores anaeróbios empregando cromatografia líquida. *Quim Nova.* **2011**, 34 (1),156.
22. Xie WQ, Xian Y, Kong G, Yu X. Enhancing the Sensitivity of Full Evaporation Technique Using Multiple Headspace Extraction Analysis. *Chromatographia.* **2017**, 80, 1263.
23. Westland JL, Dorman FL. Comparison of SPME and static headspace analysis of blood alcohol concentration utilizing two novel chromatographic stationary phases. *Forensic Sci Int.* **2013**, 231.

24. Molavi H, Yousefpour A, Mirmostafa A, Sabzi A. Static Headspace GC / MS Method for Determination of Methanol and Ethanol Contents , as the Degradation Markers of Solid Insulation Systems of Power Transformers. *Chromatographia*. **2017**, 80(7), 1129.
25. Scotter MJ, Roberts DPT. Development and validation of a rapid headspace gas chromatography-mass spectrometry method for the determination of diethyl ether and acetone residues in Tween extracts of shellfish intended for mouse bioassay for diarrhoeic toxins. *J Chromatogr A*. **2007**, 1157, 386.
26. Nascimento ESP, Cardoso DR, Franco DW. Comparação de técnicas de determinação de Ésteres em cachaça. *Quim Nova*. **2009**, 32(9), 2323.
27. Lou DW, Lee X, Pawliszyn J. Extraction of formic and acetic acids from aqueous solution by dynamic headspace-needle trap extraction. Temperature and pH optimization. *J Chromatogr A*. **2008**;1201(2), 228.
28. Strassnig S, Lankmayr EP. Elimination of matrix effects for static headspace analysis of ethanol. *J Chromatogr A*. **1999**, 849(2), 629.
29. Pandey S, Pandey P, Kumar R, Singh NP. Residual solvent determination by head space gas chromatography with flame ionization detector in omeprazole API. *Brazilian J Pharm Sci*. **2011**, 47(2), 379.
30. Li H, Chai X, Deng Y, Zhan H, Fu S. Rapid determination of ethanol in fermentation liquor by full evaporation headspace gas chromatography. *J Chromatogr A*. **2009**, 1216, 169.
31. Xie W, Yu K, Gong Y. A double sealing technique for increasing the precision of headspace-gas chromatographic analysis. *J Chromatogr A*, **2018**, 1533, 221.
32. Zhou D, Hou Q, Liu W, Ren X. Rapid determination of formic and acetic acids in biomass hydrolysate by headspace gas chromatography. *J Ind Eng Chem*, **2017**, 47, 281.
33. Stupak M, Kocourek V, Kolouchova I, Hajslova J. Rapid approach for the determination of alcoholic strength and overall quality check of various spirit drinks and wines using GC e MS. *Food Control*, **2017**, 80, 307.
34. Yonamine M, Tawil N, Lucia R, Moreau DM, Silva OA. Solid-phase micro-extraction – gas chromatography – mass spectrometry and headspace-gas chromatography of tetrahydrocannabinol , amphetamine , methamphetamine , cocaine and ethanol in saliva samples. *J Chromatogr B*. **2003**, 789, 73.

35. Cruwys J., Dinsdale R., Hawkes F., Hawkes D. Development of a static headspace gas chromatographic procedure for the routine analysis of volatile fatty acids in wastewaters. *J Chromatogr A*. **2002**, 945(1),195.
36. Fiorini D, Pacetti D, Gabbianelli R, Gabrielli S, Ballini R. A salting out system for improving the efficiency of the headspace solid-phase microextraction of short and medium chain free fatty acids. *J Chromatogr A* . **2015**, 1409, 282.
37. Abalos M, Bayona JM. Application of gas chromatography coupled to chemical ionisation mass spectrometry following headspace solid-phase microextraction for the determination of free volatile fatty acids in aqueous samples. *J Chromatogr A*. **2000**, 891(2), 287.
38. Niven SJ, Beal JD, Brooks PH. The simultaneous determination of short chain fatty acid, monosaccharides and ethanol in fermented liquid pig diets. *Anim Feed Sci Technol*. **2004**, 117, 339.
39. Rincon AA, Pino V, Ayala JH, Afonso AM. Multiple headspace solid-phase microextraction for quantifying volatile free fatty acids in cheeses. *Talanta* **2014**, 129, 183.
40. Pires Valente AL, Augusto F. Microextração por fase sólida. *Quim Nova*. **2000**, 23(4), 523.
41. Soria AC, Garcia-Sarrio MJ, Sanz ML. Volatile sampling by headspace techniques. *Trends Anal Chem*. **2015**, 71, 85.
42. Snow NH, Bullock GP. Novel techniques for enhancing sensitivity in static headspace extraction-gas chromatography. *J Chromatogr A*, **2010**, 1217(16), 2726.
43. Liberto E, Cagliero C, Cordero C, Rubiolo P, Bicchi C, Sgorbini B. Fractionated dynamic headspace sampling in the analysis of matrices of vegetable origin in the food field. *J Chromatogr A*, **2017**, 1489, 18.
44. Collins CH, Braga GL., Bonato PS. Cromatografia gasosa. In: Fundamentos de Cromatografia. **2006**. p. 203.
45. Sabin GP, Prestes OD, Martins ML, Bohrer M, Zanella R. Aumento da resposta Analítica por meio da otimização do sistema de injeção sem divisão de fluxo em cromatografia gasosa empregando a lei dos gases ideais. *Quim Nova*. **2011**, 34(3), 414.
46. Poole CF. Ionization-based detectors for gas chromatography. *J Chromatogr A* **2015**, 1421, 137.

47. Lanças FM. A Cromatografia Líquida Moderna e a Espectrometria de Massas : finalmente “ compatíveis”? *Scientia Chromatographica*. **2009**, (1), 35.
48. Caldas SS, Gonçalves, Fábio Ferreira Primel EG, Prestes OD, Martins, Manoel Leonardo Zanella R. Modern techniques of sample preparation for pesticide residues determination in water by liquid chromatography with detection by diode array and mass spectrometry. *Quim Nova*, **2011**, 34(9), 1604.
49. Chiaradia MC, Collins CH, Jardim ICSF. O estado da arte da cromatografia associada à espectrometria de massas acoplada à espectrometria de massas na análise de compostos tóxicos em alimentos. *Quim Nova*. **2008**, 31(3), 623.
50. Inmetro. Orientação sobre Validação de Métodos Analíticos -DOQ-CGCRE-008. **2016**.
51. NATA's. Guidelines for the validation and verification of quantitative and qualitative test methods. **2013**.
52. Brito NM, Junior OP de A, Polese L, Ribeiro ML. Validação De Métodos Analíticos: Estratégia E Discussão. *Pestic R. Ecotoxicol e Meio Ambient*. **2003**, 13, 129.
53. Ich Harmonised Tripartite Guideline. ICH Topic Q2 (R1) Validation of Analytical Procedures : Text and Methodology. Int Conf Harmon. **2005**;
54. Videira A. Validação do método de ensaio para análise de ácidos haloacéticos. **2012**.
55. Ribani M, Grespan Bottoli CB, Collins CH, Fontes Jardim ICS, Costa Melo LF. Validação de métodos Cromatográficos e Eletroforéticos. *Quim Nova*. **2004**, 27(5), 771.
56. Eurachem. Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics. *Eurachem*. **2014**. 1-70.
57. Raposo F, Borja R, Cacho JA, Mumme J, Mohedano ÁF, Battimelli A, et al. Harmonization of the quantitative determination of volatile fatty acids profile in aqueous matrix samples by direct injection using gas chromatography and high-performance liquid chromatography techniques: Multi-laboratory validation study. *J Chromatogr A*. **2015**, 1413, 94.
58. Mary Ângela Fávaro Perez. Validação De Métodos Analíticos : Como Fazer ? Por que ela é importante? Vol. 22, *Boletim de Tecnologia e desenvolvimento de embalagens*. **2010**.

59. Aragão N, Veloso M, Andrade J. Validação de métodos cromatográficos de análise - Um experimento de fácil aplicação utilizando cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e os princípios da “Química Verde” na determinação de metilxantinas em bebidas. *Quim Nova*. **2009**, 32(9), 2476.
60. Phung TK, Busca G. Diethyl ether cracking and ethanol dehydration: Acid catalysis and reaction paths. *Chem Eng J*. **2015**, 272, 92.
61. Rosa JS da, Godoy RL de O, Oiano Neto J, Campos R da S, Matta VM da, Freire CA, et al. Desenvolvimento de um método de análise de vitamina C em alimentos por cromatografia líquida de alta eficiência e exclusão iônica. *Ciência e Tecnol Aliment*, **2007**, 27(4), 837.
62. Solomons TW. A adição de álcoois: Hemiacetais e Acetais. In: *Química Orgânica*. **2000**. p. 161.
63. Carneiro I. Análise dos compostos voláteis da aguardente de cana por concentração dinâmica do “headspace” e cromatografia gasosa-espectrometria de massas. *Ciência e Tecnol Aliment*. **2003**, 23(2), 210.
64. Isenmann A, Esteves P. Reações no grupo carbonila Ácidos carboxílicos e seus derivados. In: *Princípios da Síntese Orgânica*. **2007**. p. 345.

ANEXOS

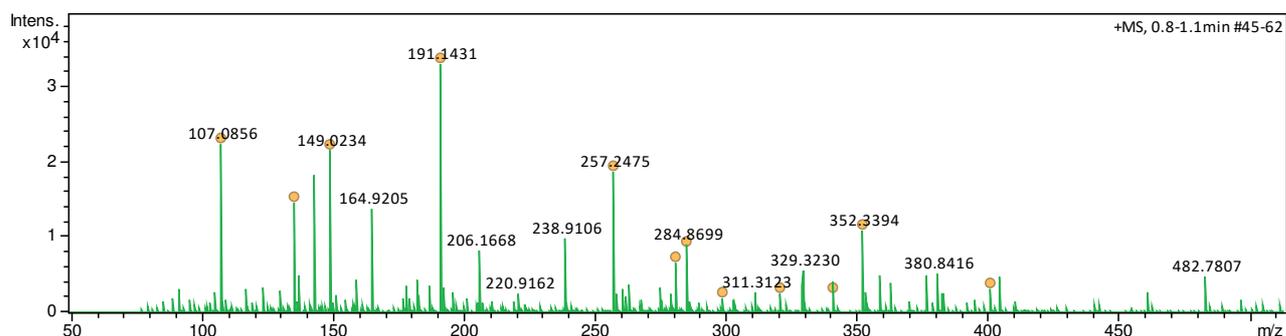


Figura 1. Análise da amostra do efluente do reator no UPLC TOF/MS no modo positivo

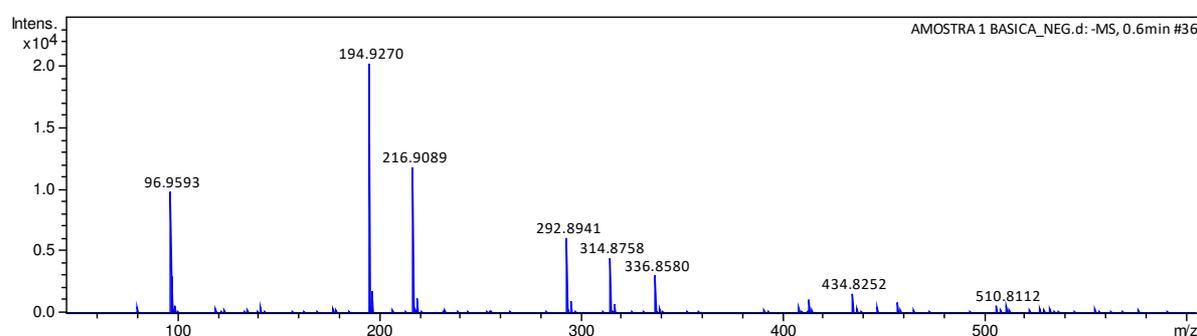


Figura 2. Análise da amostra do efluente do reator no UPLC TOF/MS no modo negativo

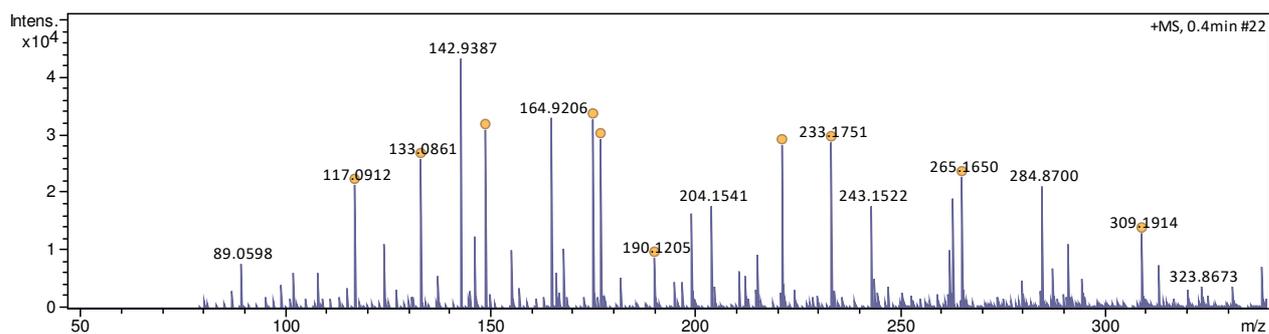


Figura 3. Análise da fase móvel no UPLC TOF/MS

Tabela 1. Resultados da concentração de ácido acético nas amostras do reator em diferentes dias de coleta e estágios do processo

ETAPA DO PROCESSO	Concentração de ácido acético (mg L ⁻¹)
Reator 1	187
	428
	186
	162
	153
Reator 2	364
	306
	308
	308
	195
	251
Reator 4	350
	413
	501
	409
	545
	469
	600
	445